

JÚLIO CÉSAR DO VALE SILVA

IDENTIFICAÇÃO DE GENITORES E CONTROLE GENÉTICO DA EFICIÊNCIA  
NO USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM MILHO

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,  
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2011

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S586i  
2011

Silva, Júlio César do Vale, 1983-

Identificação de genitores e controle genético da eficiência  
no uso de nitrogênio e fosforo em milho / Júlio César do Vale  
Silva. – Viçosa, MG, 2011.

ix, 76f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Glauco Vieira Miranda.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. *Zea mays*. 2. Milho - Melhoramento genético. 3. Milho -  
Efeito do nitrogênio. 4. Milho - Efeito de fósforo. 5. Milho -  
Efeito do stress. 6. BLUP. I. Universidade Federal de Viçosa.  
II. Título.

CDD 22. ed. 633.152

JÚLIO CÉSAR DO VALE SILVA

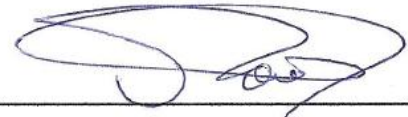
IDENTIFICAÇÃO DE GENITORES E CONTROLE GENÉTICO DA EFICIÊNCIA  
NO USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM MILHO

Tese apresentada à Universidade Federal  
de Viçosa, como parte das exigências do  
Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia,  
para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 21 de outubro de 2011.



Pesq. Lucimar Rodrigues de Oliveira



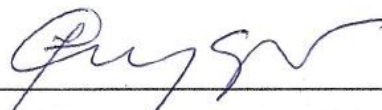
Pesq. Plínio César Soares



Prof. Roberto Fritsche Neto  
Co-orientador



Prof. Moacil Alves de Souza



Prof. João Carlos Cardoso Galvão  
(Presidente da Banca)

*“Se não puder se destacar pelo  
talento, vença pelo esforço”*

*-Dave Weinbaum-*

À Deus,  
Ofereço

Aos meus queridos avós maternos,  
João Batista do Vale (*in memoriam*) e Maria  
Inês de Queiroz Vale (*in memoriam*) e a  
minha mãe, Iaci Queiroz do Vale

Dedico.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, presença constante em minha vida, pela fortaleza e iluminação. Deu-me a oportunidade de entender que, assim como sementes, precisamos enterrar nosso orgulho, assimilar fatos nada exemplares de nosso cotidiano com alegria e fixar nossas raízes na sabedoria para amadurecer frutos de bondade e esperança.

À minha mãe, Iaci Queiroz do Vale, responsável maior por essa conquista. Mulher de Fibra que sempre se sacrificou para me oferecer as melhores condições possíveis. Aos meus irmãos, Julianna P. Figueiredo e Nelson L. Figueiredo pelo apoio e carinho e ao meu padrasto Nelson B. Figueiredo por ter sido homem suficiente e ter assumido o papel de Pai.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, pela oportunidade de realização do curso e ao CNPq, pela concessão da bolsa de estudo.

À minha namorada e companheira Flávia Araújo dos Santos, pela dedicação, apoio e paciência durante todo esse tempo.

Ao prof. Glauco Vieira Miranda, pelo incentivo, principalmente no período de adaptação.

Ao co-orientador prof. Roberto Fritsche Neto pela orientação e contribuição para realização deste estudo. Aos membros da banca examinadora, prof. Moacil Alves de Souza e Prof. João Carlos Cardoso Galvão e aos pesquisadores Plínio César Soares e Lucimar Rodrigues de Oliveira pelas sugestões valiosas.

A todos os meus familiares, mas em especial, àqueles que constantemente se preocuparam comigo durante minha caminhada: minha tia Ivanilde Q. Vale e minhas primas Gabriela Loyane do Vale e Júlia Queiróz.

Aos amigos que fizeram e fazem parte do Programa Milho® da UFV, Ciro M. Brito, Roberto Fritsche Neto, Felipe B. Pereira, Paulo H. Coutinho, Luciano M. Resende, Lucimar R. Oliveira, Rodrigo DeLima e José Roberto A. de Bem, pelos bons e maus momentos compartilhados e, acima de tudo, pelo aprendizado adquirido ao longo desses anos. Aos amigos Gustavo S. Fialho, Paulo C. Cavatte, Paulo Igor B. e Silva, Marilene Lima, Keny Mariguele e Liana A. Fritsche que, apesar de não terem dividido o mesmo espaço de trabalho, contribuíram de forma positiva para a minha formação.

Enfim, a todos que, de certa forma, deram suporte na elaboração desse estudo, aqui fica o meu reconhecimento e a minha gratidão.

## BIOGRAFIA

JÚLIO CÉSAR DO VALE SILVA, filho de Iaci Queiroz do Vale e José Bezerra da Silva, nasceu em 19 de Setembro de 1983, em Areia Branca, Rio Grande do Norte.

Cursou as séries iniciais do ensino básico na Escola Estadual Dr. Dagmar Sabino. Em 1990 transferiu-se para o Instituto Dantas Monteiro e cursou o ensino fundamental e médio, concluindo-o em 2001.

Iniciou o curso de Agronomia em agosto de 2002, concluindo-o em julho de 2007, pela Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Mossoró – RN. Durante a graduação, participou do programa de melhoramento do melão como voluntário entre março de 2003 a março de 2004. Em Abril de 2005 foi selecionado para uma bolsa do CNPq da modalidade de Iniciação Tecnológica Industrial (ITI) para desempenhar atividades no Programa de Desenvolvimento Tecnológico do Arranjo Produtivo Local da Cotonicultura do RN (PRODECOT) durante 20 meses. De março a junho de 2007 participou da Assessoria Técnico-Científica na Recuperação de Áreas Impactadas no Âmbito de Ativo de Produção da Petrobras, UN - RN/CE, pela Fundação Guimarães Duque – FGD.

Em Agosto de 2007 ingressou no mestrado do programa de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, na linha de Pesquisa Melhoramento de plantas, recursos genéticos e biotecnologia, sob a orientação do professor D.Sc. Glauco Vieira Miranda. Foi Aprovado em outubro de 2008, conforme normas do programa de pós-graduação em Fitotecnia, para mudança de nível do mestrado para o doutorado direto, sem defesa de dissertação de mestrado. Foi qualificado no dia 24 de fevereiro de 2011 e submeteu-se a defesa da tese de doutorado no dia 21 de outubro de 2011.

Iniciará o Pós-Doutorado em novembro de 2011 pela Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais – EPAMIG, na Unidade Regional Epamig da Zona da Mata - UREZM, Viçosa – MG, sob a supervisão do pesquisador D.Sc Plínio César Soares no Programa de Melhoramento do Arroz.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>viii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>1</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>3</b>
<b>2 ARTIGO I.....</b>	<b>5</b>
IDENTIFICAÇÃO DE GENITORES QUANTO AOS COMPONENTES DA EFICIÊNCIA NO USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM MILHO.....	5
<b>3 ARTIGO II.....</b>	<b>25</b>
IMPORTÂNCIA RELATIVA DOS EFEITOS GÊNICOS DE CARACTERES ASSOCIADOS À EFICIÊNCIA NO USO DE NITROGÊNIO EM MILHO.....	25
<b>4 ARTIGO III.....</b>	<b>50</b>
IMPORTÂNCIA RELATIVA DOS EFEITOS GÊNICOS DE CARACTERES ASSOCIADOS À EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM MILHO.....	50
<b>5 CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	<b>76</b>

## RESUMO

SILVA, Júlio César do Vale, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, outubro de 2011. **Identificação de genitores e controle genético da eficiência no uso de nitrogênio e fósforo em milho.** Orientador: Glauco Vieira Miranda; Co-orientadores: João Carlos Cardoso Galvão e Roberto Fritsche Neto.

Nos últimos anos, o interesse pela agricultura sustentável tem estimulado os programas de melhoramento de plantas a desenvolver genótipos mais eficientes no uso de recursos, principalmente daqueles não renováveis. Dentre as principais estratégias está a de melhorar a eficiência no uso de nitrogênio (N) e fósforo (P), por meio da eficiência na absorção e a eficiência na utilização desses nutrientes. Todavia, o conhecimento da herança desses caracteres é fundamental para orientar o melhorista quanto ao método mais adequado de melhoramento a ser empregado. Assim, objetivou-se identificar: (i) genótipos de milho contrastantes quanto à eficiência na absorção e a eficiência na utilização de N e P, em alta e baixa disponibilidade desses nutrientes para estudo de herança; (ii) a importância relativa dos componentes da eficiência nutricional, em condições contrastantes de disponibilidade de N e P (iii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca com a eficiência no uso de N e P e seus componentes e, (iv) o controle genético dos caracteres associados à eficiência no uso de N e P. Inicialmente foram avaliadas 15 linhagens em dois experimentos, o primeiro para N e o segundo para P, em alta e baixa disponibilidade desses nutrientes. Os nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (combinação híbrida x disponibilidade de N ou P). Mensurou-se os caracteres massa de parte aérea seca, as eficiências na absorção e na utilização de N e P e os comprimentos de raízes laterais e axiais. As análises estatísticas foram realizadas por meio das equações de modelos mistos. Observou-se variabilidade genética para a quase totalidade dos caracteres avaliados. Verificou-se que é possível identificar genitores contrastantes quanto aos componentes da eficiência no uso de N e P para estudo de herança. Posteriormente, conduziu-se um fatorial interpopulacional envolvendo 14 dessas 15 linhagens, divididas em dois grupos de genitores. O grupo I foi composto de sete linhagens contrastantes para eficiência no uso de P e o grupo II composto de sete linhagens contrastantes para eficiência no uso de N. Com isso, obtiveram-se 41 combinações híbridas experimentais que foram avaliadas em dois experimentos, às semelhanças dos que foram conduzidos para identificar os genitores.

Independentemente da disponibilidade de N ou P, a eficiência na absorção foi o componente mais importante para a eficiência no uso de ambos nos nutrientes. A massa de parte aérea seca permite a seleção indireta de genótipos mais eficientes no uso de N e P. As interações combinação híbrida x disponibilidade N ou P são predominantemente do tipo simples, de forma que a seleção pode ser realizada em uma única disponibilidade desses nutrientes. O controle genético da eficiência no uso de N é principalmente do tipo aditivo, de modo que a seleção pode ser realizada pelo desempenho individual de linhagens. O controle genético da eficiência no uso de P é predominantemente do tipo não aditivo, de modo que a seleção deve ser realizada pelo desempenho de híbridos.

## ABSTRACT

SILVA, Júlio César do Vale, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2011. **Identification parents and genetic control genetic of nitrogen and phosphorus use efficiency in maize.** Adviser: Glauco Vieira Miranda; Co-advisers: João Carlos Cardoso Galvão and Roberto Fritsche Neto.

In recent years, interest in sustainable agriculture has encouraged plant breeding programs to develop genotypes more efficient use of resources, especially those non-renewable. Among the main strategies is to improve nitrogen (N) and phosphorus (P) use efficiency and phosphorus through the acquisition efficiency and utilization efficiency of these nutrients. However, knowledge of the inheritance of these traits is essential to guide breeders in the most appropriate method to be used for improvement. Thus, the aimed to identify: (i) contrasting maize parents to N and P acquisition and utilization efficiencies, in high and low availability these nutrients to be used in a study of inheritance; (ii) the relative importance of the components of nutritional efficiency, in contrasting conditions of availability N and P; (iii) the relationship of system root and shoot dry mass with nutritional efficiency, in contrasting conditions of availability N and P; (iv) the genetic control of traits associated with N and P use efficiency. Initially were evaluated 15 inbred lines in two experiments, the first to N and second to P, in high and low availability of these nutrients. The nutrients were supplied by way of nutrient solution from the seventh day after germination. Were used a randomized block design with two replications in factorial simple (hybrid combination x availability of N or P). Were measured shoot dry mass, N and P acquisition and utilization efficiencies and, lengths of axial and lateral roots. Statistical analysis was performed using the mixed model equations. It was observed genetic variability for almost all of the traits evaluated. Were observed that is possible to identify contrasting parents to components of N and P use efficiency to study of inheritance. Later, were conducted a factorial interpopulation involving 14 of these 15 inbred lines, in two groups of parents. Group I was composed of seven contrasting parents for P use efficiency. Group II was composed of seven contrasting parents for N use efficiency. Posteriorly, were obtained 41 experimental hybrid combinations that were evaluated in two experiments, the similarities of which conducted to identify parents. Independently of the availability N and P, the acquisition efficiency was the most important component for the both nutrients use efficiency. The shoot dry mass allows indirect selection of genotypes more efficient in the use of N and P. Interactions hybrid combinations x availability N or P

are predominantly of the simple type, so the selection can be performed on a single availability of these nutrients. The genetic control of N use efficiency is mainly additive, so the selection can be performed by the individual inbred lines performance. The control genetic of P use efficiency is predominantly non-additive, so that the selection should be carried out by the hybrids performance.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A limitação na disponibilidade de nitrogênio (N) e fósforo (P) durante o crescimento e desenvolvimento vegetal, reduz o metabolismo, a massa e superfície de vários órgãos das plantas, afetando assim a produtividade (Hirel *et al.*, 2007; Sultenfuss e Doyle, 1999). Isto se deve a esses nutrientes estarem envolvidos na constituição de compostos energéticos, como ATP, na composição de ácidos nucleicos, açúcares fosfatados, fosfolipídios e coenzimas (NAD e NADP) que são fundamentais nos processos fotossintéticos.

A maioria dos ambientes naturais apresenta condições desfavoráveis com relação aos recursos que limitam a produção agrícola, principalmente no que diz respeito ao N e P (Nielsen *et al.*, 1999). Além disso, o elevado custo com adubação nitrogenada e fosfatada, tem inviabilizado, em algumas situações, o aumento da produção de pequenos agricultores, principalmente em regiões marginais de cultivo. Por outro lado, em países desenvolvidos, em que quantidades demasiadas, principalmente de N, são fornecidas as culturas, ocorrem problemas especialmente nas áreas da saúde e do meio ambiente, em razão do seu grande potencial poluidor (Ahlgren *et al.*, 2008). Adicionalmente, para produzir esses fertilizantes são necessários recursos não renováveis, que estão se tornando cada vez mais escassos. Assim, entre os desafios para os próximos anos estão o de suprir as crescentes necessidades da população mundial, elevar a segurança alimentar e melhorar a utilização de recursos não renováveis. Isto pode ser alcançado por meio do desenvolvimento de uma agricultura altamente produtiva, com menores custos e sustentável. Neste sentido, torna-se importante o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de N e P.

Moll *et al.* (1982) definiram a eficiência no uso de nutrientes ou eficiência nutricional, como a relação entre a massa de grãos ou de parte aérea seca por unidade de nutriente disponível. É constituída por dois componentes: (i) eficiência na absorção, mensurado pela relação entre a quantidade total de nutriente extraído da planta e a quantidade desse nutriente disponível no solo e, (ii) eficiência na utilização, obtida pela razão entre a massa de grãos ou de parte aérea e a quantidade total de nutriente extraído pela planta. Dessa forma, ganho na eficiência nutricional pode ser alcançado através de aumento da eficiência na absorção e, ou da eficiência na utilização.

Estudos indicam que a importância dos componentes da eficiência nutricional varia em função da disponibilidade de nutrientes no solo. Le Gouis *et al.* (2000) trabalharam com disponibilidades contrastantes de N e Manske *et al.* (2001)

contrastantes de P e observaram que quando a disponibilidade desses nutrientes é limitante, a eficiência na absorção é o componente mais importante. Por outro lado, Balemi e Schenk (2009) constataram que a eficiência na utilização é o mais relevante para P, em condições ideais de disponibilidade desse nutriente. Entretanto, existem trabalhos que relatam que a eficiência na absorção é o componente de maior importância, independentemente da disponibilidade de nutrientes no solo, como por exemplo, o de Corrales *et al.* (2007) para a alta e baixa disponibilidade de P.

O conhecimento dessas informações, assim como da herança genética em condições contrastantes de disponibilidade de N e P, é fundamental para orientar o melhorista quanto ao método mais adequado de melhoramento a ser empregado (Gaume *et al.*, 2001; Yun e Kaeppler, 2001). Dessa forma, parâmetros genéticos como capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação são importantes para fazer inferências acerca do controle genético do caráter de interesse e sobre as possibilidades de melhoramento, bem como para indicação de novos cultivares (Betrán *et al.*, 2003; Oliveira Jr. *et al.*, 1999).

A validação de métodos de avaliação precoce ou de seleção indireta em plantas também é de grande interesse para programas de melhoramento para condições de estresses abióticos, pois aceleram o processo de seleção, descartando de imediato os genótipos menos promissores (Machado *et al.*, 2004). Por exemplo, Chun *et al.* (2005) trabalharam em condições contrastantes de N e Souza *et al.* (2010) de P e verificaram que é possível selecionar, precocemente, genótipos de milho com alta eficiência na absorção por meio de caracteres de raiz. Para isso, o conhecimento da relação entre caracteres é de grande valia, principalmente se os caracteres de interesse apresentam baixa herdabilidade e, ou tenham problemas de mensuração e identificação (Falconer, 1981). Neste sentido, caracteres como massa de parte aérea seca e comprimentos de raízes podem ser mensurados em qualquer estágio de desenvolvimento de forma rápida e de baixo custo. Todavia, a influência desses caracteres na eficiência nutricional ainda é muito pouco conhecida.

Neste contexto, objetivou-se identificar: (i) genótipos contrastantes quanto à eficiência na absorção e a eficiência na utilização de N e P, em alta e baixa disponibilidade desses nutrientes para estudo de herança; (ii) a importância relativa dos componentes da eficiência nutricional, em condições contrastantes de disponibilidade de N e P (iii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca com a eficiência no uso de N e P e seus componentes e, (iv) o controle genético dos caracteres associados à eficiência no uso de N e P.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahlgren S, Baky A, Bernesson S, Nordberg A, Norén O, Hansson P. 2008. Ammonium nitrate fertiliser production based on biomass – environmental effects from a life cycle perspective. **Bioresource Technology** **99**: 8034-8041.

Balemi T, Schenk MK. 2009. Genotypic variation of potato for phosphorus efficiency and quantification of phosphorus uptake with respect to root characteristics. **Journal Plant Nutrition Soil Science** **172**: 669-677.

Betrán FJ, Beck D, Bänziger M, Edmeades GO. 2003. Genetic analysis of inbred and hybrid grain yield under stress and nonstress environments in tropical maize. **Crop Science** **43**: 807-817.

Chun L, Mi G, Li J, Chen F, Zhang F. 2005. Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. **Plant and Soil** **276**: 369-382.

Corrales I, Amenós M, Poschenrieder C, Barceló J. 2007. Phosphorus efficiency and root exudates in two contrasting tropical maize varieties. **Journal Plant Nutrition** **30**: 887-900.

Falconer DS. 1981. **Introduction to quantitative genetics**. 2ª Ed. Longmans Green, London/New York. 279p.

Gaume A, Mächler F, De León C, Narro L, Frossard E. 2001. Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. **Plant and Soil** **228**: 253-264.

Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A. 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany** **58**: 2369-2387.

Le Gouis J, Béghin D, Heumez E, Pluchard P. 2000. Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilization efficiencies in winter wheat. **European Journal of Agronomy** **12**: 163-173.

Machado CTT, Machado AT, Furlani AMC. 2004. Variação intrapopulacional em milho para características relacionadas com a eficiência de absorção e utilização de fósforo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** **3**: 77-91.

Manske GGB, Ortiz-Monasterio JI, van Ginkel M, González RM, Fischer RA, Rajaram S, Vlek PLG. 2001. Importance of P uptake efficiency versus P utilization for wheat yield in acid and calcareous soils in Mexico. **European Journal of Agronomy** **14**: 261-274.

Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** **74**: 562-564.

Nielsen KL, Miller CR, Beck D, Lynch JP. 1999. Fractal geometry of root system: Field observations of contrasting genotype of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different phosphorus regimes. **Plant and soil** **206**: 181-190.

Oliveira Jr. A, Miranda GV, Cruz CD. 1999. Prediction of F3 populations based on unbalanced diallel crossing systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **34**: 781-787.

Souza SM, Parentoni SN, Guimarães CT, Magalhães JV, Vasconcelos MJV. 2010. Análise do sistema radicular para seleção de genótipos de milho mais eficientes na aquisição de fósforo. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento** **24**. 21p.

Sultenfuss JH and Doyle WJ. 1999. Phosphorus for agriculture. **Better Crops with Plant Food** **83**: 1-40.

Yun SJ, Kaepler SM. 2001. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. **Plant and Soil** **237**: 109-115.

## 2. ARTIGO I

### IDENTIFICAÇÃO DE GENITORES QUANTO AOS COMPONENTES DA EFICIÊNCIA NO USO DE NITROGÊNIO E FÓSFORO EM MILHO

#### RESUMO

O interesse pela agricultura sustentável tem estimulado os programas de melhoramento de plantas a desenvolver genótipos mais eficientes no uso de recursos, principalmente daqueles não renováveis. Dentre as principais estratégias está a de melhorar a eficiência no uso de nitrogênio (N) e fósforo (P), por meio da eficiência na absorção e a eficiência na utilização desses nutrientes. Assim, objetivou-se: i) avaliar o comportamento de linhagens de milho quanto às eficiências na absorção e na utilização de N e P; ii) identificar as relações entre os comprimentos de raízes e as eficiências na absorção e na utilização de N e P em ambientes contrastantes desses nutrientes; iii) identificar genitores contrastantes quanto às eficiências na absorção e na utilização de N e P para serem utilizados em estudo de herança. Foram avaliadas 15 linhagens em dois experimentos, o primeiro para N e o segundo para P, em alta e baixa disponibilidade desses nutrientes. A colheita foi realizada no estágio vegetativo V4 e mensurados os caracteres massa de parte aérea seca, as eficiências na absorção e na utilização de N e P e os comprimentos de raízes laterais e axiais. As análises estatísticas foram realizadas por meio das equações de modelos mistos. Observou-se variabilidade genética para a quase totalidade dos caracteres avaliados. A seleção pode ser praticada para a maioria destes em ambientes específicos. Em baixa disponibilidade nutricional, as médias e herdabilidades apresentaram estimativas de menor magnitude. Observou-se que os comprimentos de raízes laterais e axiais apresentaram forte associação com a eficiência na absorção de N e P nas duas disponibilidades de ambos os nutrientes. Assim, ganhos genéticos positivos para a eficiência no uso de N e P podem ser obtidos via seleção indireta nesses caracteres. Para o estudo de herança da eficiência no uso de N e P, devem ser utilizadas as linhagens 8, 11, 3 e 12 que tiveram desempenhos contrastantes na maioria dos ambientes estudados.

**Palavras chave:** *Zea mays* L., eficiência nutricional, variabilidade genética, estresse abiótico, REML/BLUP.

## **IDENTIFICATION PARENTS TO COMPONENTS OF NITROGEN AND PHOSPHORUS USE EFFICIENCY IN MAIZE**

### **ABSTRACT**

The interest in sustainable agriculture has encouraged plant breeding programs to develop genotypes more efficient use of resources, especially those non-renewable. Among the main strategies is to improve nitrogen (N) and phosphorus (P) use efficiency and phosphorus through the acquisition efficiency and utilization efficiency of these nutrients. Thus, it was aimed: i) to evaluate the behavior of inbred lines maize to N and P acquisition and utilization efficiencies; ii) to identify the relationship between the roots lengths with N and P acquisition and utilization efficiencies in contrasting environments these nutrients; iii) to identify contrasting parents to N and P acquisition and utilization efficiencies to be used in a study of inheritance. Were evaluated 15 inbred lines in two experiments, the first for N and second for P, in high and low availability of these nutrients. Plants were harvested at vegetative stage V4 and were measured shoot dry mass, N and P acquisition and utilization efficiencies and lengths of axial and lateral roots. Statistical analysis was performed using the mixed model equations. Genetic variability was observed for almost all of the traits evaluated. The selection can be practiced for most of these traits in specific environments. Low availability of nutrients, the mean and heritability estimates showed smaller magnitude. It was observed that the lengths of axial and lateral roots were strongly associated with the N and P acquisition efficiency in both availability of nutrients. Thus, positive genetic gains for the N and P use efficiency can be obtained by indirect selection on these traits. To study the inheritance of N and P use efficiency should be used lines 8, 11, 3 and 12 that had contrasting performances in most environments studied.

**Key-words:** *Zea mays* L., nutritional efficiency, genetic variability, abiotic stress, REML/BLUP.

## INTRODUÇÃO

A utilização eficaz dos recursos genéticos vegetais será necessária para responder as demandas crescentes de alimentos e ao mesmo tempo preservar a qualidade ambiental. Assim, é de fundamental importância pesquisar espécies e, ou genótipos que sejam capazes de absorver e assimilar de forma eficiente os nutrientes (Souza *et al.*, 2008; Souza *et al.*, 2009). Alguns sistemas de produção têm utilizado genótipos cada vez mais responsivos à alta quantidade de adubos, especialmente nitrogênio (N) e fósforo (P), os quais limitam à produção agrícola (Tilman *et al.*, 2002). No entanto, esse aumento no fornecimento de fertilizantes tem intensificado o decréscimo da eficiência nutricional e contribuído para o aumento da poluição ambiental em muitas regiões (Cui *et al.*, 2009).

O P é um nutriente limitante em várias regiões do mundo, principalmente nos solos intemperizados dos trópicos, enquanto que o N tem sido pouco investido por produtores de menor poder aquisitivo em desenvolvimento, em razão do seu elevado custo (Hirel *et al.*, 2007). Dessa forma, torna-se necessário a adoção de genótipos que quando submetidos a condições nutricionais mínimas, mantenham satisfatoriamente a produção.

Existem várias definições e metodologias descritas para se calcular a eficiência no uso de nutrientes ou eficiência nutricional de uma cultura. No entanto, parecem mais plausíveis as adotadas recentemente pelos pesquisadores, como sendo a habilidade de um determinado genótipo produzir massa de grãos ou de parte aérea sob certa suplementação nutricional (Moll *et al.*, 1982). Segundo esses autores, a eficiência nutricional é dividida em dois componentes: (i) eficiência na absorção, habilidade de determinado genótipo absorver certo nutriente do solo e (ii) eficiência na utilização, capacidade desse genótipo produzir massa seca ou grãos usando o nutriente que foi absorvido. Dessa forma, ganho na eficiência nutricional pode ser alcançado através de aumento da eficiência na absorção e, ou da eficiência na utilização (Presterl *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2009).

Vários caracteres bioquímicos e fisiológicos estão envolvidos no aumento da eficiência nutricional em plantas. Considerando a absorção de P, os caracteres mais importantes são morfologia e arquitetura radicular, pois a disponibilidade desse nutriente é desuniformemente distribuído ao longo do perfil do solo (Whang *et al.*, 2010). A arquitetura radicular definida como a configuração espacial do sistema radicular, determina a extensão explorada através do perfil do solo. Esta por sua vez,

pode sofrer modificações de ordem genética, buscando adaptação às condições adversas. Por exemplo, em estresse hídrico ocorre aumento no crescimento do sistema radicular em profundidade e na formação de raízes laterais (Chun *et al.*, 2005). Em baixa disponibilidade de P, a modificação ocorre nas camadas mais superficiais, proporcionando aumento na absorção desse nutriente (Lynch e Brown, 2001).

Variabilidade genotípica para o alongamento de raízes laterais e axiais pode ser fundamental na seleção de genótipos mais eficientes na absorção de nutrientes. A identificação de QTLs no estágio inicial de desenvolvimento do milho para caracteres radiculares, como alongamento de raízes laterais e axiais em estresse hídrico (Ruta *et al.*, 2010), bem como sua resposta a baixa disponibilidade de P (Zhu *et al.*, 2005) e de N (Gallais e Hirel, 2004) revelaram a importância do estudo da morfologia radicular em estágio precoce para a predição do desempenho de genótipos em estágios mais avançados. Assim, a avaliação precoce ou a seleção indireta, empregando caracteres correlacionados, são também de grande interesse no melhoramento de plantas para condições de estresses abióticos, pois aceleram o processo de seleção, descartando de imediato os genótipos menos promissores (Machado *et al.*, 2004).

Diante do exposto, objetivou-se: i) avaliar o comportamento de linhagens de milho quanto às eficiências na absorção e na utilização de N e P; ii) identificar as relações entre os comprimentos de raízes e as eficiências na absorção e na utilização de N e P em ambientes contrastantes desses nutrientes; iii) identificar genitores contrastantes quanto às eficiências na absorção e na utilização de N e P para serem utilizados em estudo de herança.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material genético e condução experimental**

Foram avaliadas 15 linhagens de milho provenientes do Programa Milho® da Universidade Federal de Viçosa – UFV, em dois experimentos. No primeiro foram utilizados dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de N: baixa (BN) e alta (AN). No segundo, dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de P: baixa (BP) e alta (AP). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com três repetições, em esquema fatorial simples (linhagem x disponibilidade de N ou P). Os experimentos foram conduzidos em casa de vegetação, localizada no Campo Experimental Diogo Alves de Mello, pertencente ao

Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, Brasil (20°45'14"S; 42°52'53"W), durante o mês de outubro de 2009.

As sementes foram esterilizadas, lavadas com água deionizada e posteriormente germinadas em bandejas com células individuais. Após a emergência, transplantou-se uma plântula de cada linhagem para vasos cilíndricos de PVC de 4 dm<sup>3</sup> (10cm de diâmetro x 50cm de altura), constituindo assim uma parcela.

O substrato para o primeiro experimento foi preparado pela mistura de areia lavada em água deionizada e vermiculita, na proporção de 1:1, segundo metodologia proposta por Walk *et al.* (2006). Para o experimento 2 utilizou-se a mistura de 50% areia, 37,5% de vermiculita e 12,5% de solo. O solo foi usado para adsorver o fósforo e não deixá-lo prontamente disponível para a planta.

A solução nutritiva foi fornecida a cada dois dias, a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. No primeiro experimento foi utilizada a solução descrita por Chun *et al.*, (2005) contendo (em mmol L<sup>-1</sup>) em alta disponibilidade de N: 2,0 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,75 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,65 MgSO<sub>4</sub>, 0,1 KCl, 0,25 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> MnSO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-4</sup> CuSO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> ZnSO<sub>4</sub>, 5 x 10<sup>-6</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 0,1 Fe-EDTA. Em baixa disponibilidade de N a solução continha 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ou seja, concentração dez vezes menor que em alta disponibilidade desse nutriente. O Ca<sup>2+</sup> foi compensado pelo CaCl<sub>2</sub>. Para o segundo experimento o P foi adicionado na forma de superfosfato triplo. Em baixa disponibilidade de P adicionou-se 20 mg dm<sup>-3</sup> de P e, em alta disponibilidade, 104 mg dm<sup>-3</sup> de P, conforme Alvarez V. *et al.* (2000). Estas doses foram previamente identificadas em experimento preliminar. Os demais nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva descrita por Passos (1996), sem adição de P, contendo: 1,0M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 1,0M MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0,5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,32 mM CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O, 46,0 mM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,073 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 9,1 mM MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O, 0,76 mM ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O e 38,0 mM Fe-EDTA.

As plantas foram colhidas no estágio vegetativo V4, isto é com quatro folhas completamente expandidas, 22 dias após a semeadura. A parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular e acondicionada em sacos de papel. Posteriormente procedeu-se com a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60° C por 72 horas, onde se alcançou massa constante.

### **Mensuração dos caracteres**

Todo o sistema radicular, desde a radícula até as raízes nodulares (Figura 1), foi avaliado pela análise de imagens, utilizando o software WinRHIZO Pro 2009c (Basic,

Reg, Pro & Arabidopsis for Root Measurement) acoplado a um scanner EPSON *Expression* 10.000 XL equipado com luz adicional (TPU), com definição de 400 dpi, conforme descrito por Bouma *et al.* (2000). As dez classes de diâmetro fornecidas pelo software foram simplificadas em apenas duas, conforme metodologia proposta por Trachsel *et al.* (2009). Assim, para o comprimento das raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>), foram considerados fragmentos com diâmetro menor ou igual a 0,5mm, e para o comprimento das raízes axiais (CR<sub>AXI</sub>), fragmentos com diâmetro maior que 0,5mm.

Para a quantificação do teor de N, extraíram-se amostras de 0,2 g da massa de parte aérea seca (MPS) por planta e foi feita a digestão, a destilação e a titulação pelo método descrito por Bremner e Mulvaney (1982). Para a quantificação do teor de P, extraíram-se amostras de 0,1 g de MPS e realizada a digestão nitroperclórica, conforme Malavolta *et al.* (1989). As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 725 nm. Os conteúdos de N e P foram estimados a partir dos seus respectivos teores, extrapolando-os por unidade de MPS.

A eficiência no uso de N e seus componentes, a eficiência na absorção (EAN) e na utilização de N (EUtN), assim como a eficiência no uso de P e seus componentes, a eficiência na absorção (EAP) e na utilização de P (EUtP), foram calculadas de acordo com o proposto por Moll *et al.*, (1982):

$$EAN = \frac{N(\text{absorvido})}{N(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUtN = \frac{MPS}{N(\text{absorvido})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUN = EAN \times EUtN = \frac{MPS}{N(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EAP = \frac{P(\text{absorvido})}{P(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUtP = \frac{MPS}{P(\text{absorvido})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUP = EAP \times EUtP = \frac{MPS}{P(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

### **Análises de deviance e componentes de variância**

Na análise de modelos mistos, os efeitos do modelo não são testados via teste *F*, assim como se faz no método da análise de variância. Nesse caso, para os efeitos aleatórios, o recomendado é o teste da razão de verossimilhança (LRT), em que um quadro similar ao da análise de variância é elaborado e denominado por Análise de Deviance (ANADEV), estabelecida pelos seguintes passos (Fritsche-Neto, 2011): i) obter o ponto de máximo do logaritmo da função de verossimilhança residual (Log L) para modelos com e sem o efeito a ser testado; ii) obter a deviance  $D = -2 \text{ Log L}$  para

modelos com e sem o efeito a ser testado; iii) obter a diferença entre as devianças para modelos com e sem o efeito a ser testado, obtendo a razão de verossimilhança (LR); iv) testar, via LRT, a significância dessa diferença usando o teste qui-quadrado com 1 grau de liberdade, pois estas estimativas tendem a ter este tipo de distribuição.

Para a obtenção dos componentes de variância e das estimativas dos parâmetros genéticos, submeteu-se os dados a análises por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/ Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP), conforme descrito por Resende (2002).

Antes de proceder as análises, verificou-se que alguns caracteres não apresentavam distribuição normal. Dessa forma, foi realizada a transformação dos dados. Para as variáveis EAN, EUtN, EAP e EUtP utilizou-se  $\sqrt{(x+0,5)}$ . Para CR<sub>LAT</sub> e CR<sub>AXI</sub> foi utilizado  $\log(x+1)$ . Posteriormente, procederam-se as análises, considerando o seguinte modelo:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Zg} + \mathbf{Wi} + \mathbf{e}$$

em que:  $\mathbf{y}$  é o vetor das médias fenotípicas das linhagens;  $\mathbf{r}$  é o vetor dos efeitos de repetição dentro das disponibilidades de N ou P (assumidos como fixos) somados à média geral;  $\mathbf{g}$  é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), em que,  $g \sim N(0, G)$ , sendo  $G = I\sigma_g^2$ ;  $\mathbf{i}$  é o vetor da interação linhagem x disponibilidade de N ou P (assumidos como aleatórios), em que,  $i \sim N(0, I_{ga})$ , sendo  $I_{ga} = I\sigma_{ga}^2$ ;  $\mathbf{e}$  é o vetor de erros, sendo que  $e \sim N(0, R)$  e  $R = I\sigma_e^2$ .  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$  e  $\mathbf{W}$  são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  ao vetor  $\mathbf{y}$ .

As equações de modelo misto para a predição de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  equivalem a:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} & \mathbf{X}'\mathbf{W} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda_1 & \mathbf{Z}'\mathbf{W} \\ \mathbf{W}'\mathbf{X} & \mathbf{W}'\mathbf{Z} & \mathbf{W}'\mathbf{W} + \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{g} \\ \mathbf{i} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \\ \mathbf{W}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

em que,  $\lambda_1 = \frac{1 - h_g^2 - h_i^2}{h_g^2}$  e  $\lambda_2 = \frac{1 - h_g^2 - h_i^2}{h_i^2}$

$h_g^2$  é a herdabilidade no sentido amplo das linhagens;  $h_i^2$  é o coeficiente de determinação da interação linhagem x disponibilidade de N ou P.

Para a resolução das equações de modelos mistos e a obtenção dos valores genéticos, os componentes de variância genéticos e não genéticos foram assumidos desconhecidos. Estes foram estimados pelo método REML, utilizando o pacote estatístico computacional SELEGEM-REML/BLUP (Resende, 2007).

## Correlações entre caracteres

Para a relação entre os diferentes caracteres numa mesma disponibilidade de N ou P, estimou-se os coeficientes de correlação genotípica ( $r_g$ ) por meio da expressão

$$r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 \hat{\sigma}_{gy}^2}}, \text{ em que, } \hat{\sigma}_{gxy} \text{ é o estimador da covariância genotípica entre os caracteres}$$

em uma dada disponibilidade de N ou P;  $\hat{\sigma}_{gx}^2$  e  $\hat{\sigma}_{gy}^2$  são estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres.

As estimativas de  $r_g$  foram testadas a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análises de deviance e parâmetros genéticos

As linhagens diferiram significativamente pela análise de deviance para a maioria dos caracteres avaliados, com exceção da eficiência na utilização de P (Tabela 1). Observou-se comportamento diferencial das linhagens quando submetidos às condições de baixa e alta disponibilidade de N e P, evidenciado pelo efeito significativo da interação linhagem x disponibilidade de N ou P. As exceções foram os comprimentos de raízes laterais e axiais nos ambientes de N, para a qual as linhagens podem ser avaliadas e selecionadas com base no desempenho em apenas uma das disponibilidades desse nutriente, ou ainda, pela média destes. Verifica-se dessa forma, que as disponibilidades dos nutrientes foram suficientes contrastantes para identificar a variabilidade entre as linhagens. Portanto, a seleção é viável para a maioria dos caracteres avaliados, sendo possível obter ganhos genéticos, seja com a formação de populações e, ou obtenção de combinações híbridas para ambientes específicos.

Os caracteres massa de parte aérea seca, bem como os de comprimentos de raízes, tanto para as disponibilidades de N como de P, apresentaram herdabilidades de médias a altas magnitudes, confirmando que a seleção direta, ou mesmo indireta, possibilita ganhos satisfatórios com a seleção.

Para quase todos os caracteres avaliados os maiores valores de média geral foram observados no experimento com N em relação ao do P. A única exceção foi para a eficiência na utilização de P. Este resultado evidencia que é requerido mais N que P para produção massa seca em milho. Os coeficientes de variação apresentaram valores dentro do aceitável para este tipo de estudo (Bänziger *et al.*, 1997a; Bänziger e Lafitte

1997b), o que indica boa precisão experimental e a alta confiabilidade das estimativas. Isto demonstra que são necessárias poucas repetições para a avaliação de linhagens. Entretanto, para as massas de parte aérea seca, o mesmo não foi observado, sendo assim necessário maior número de observações do que foi utilizado neste trabalho, ou ainda, considerar o coeficiente de parentesco entre as linhagens, buscando assim minimizar os efeitos dos fatores não controlados no experimento.

### **Correlações entre caracteres**

Apesar de o sistema radicular ser essencial na absorção de N e P, pouco é conhecido sobre a relação entre os caracteres de raiz e absorção desses nutrientes. Neste sentido, foram estimados os coeficientes de correlação entre os componentes da eficiência no uso de N e P com os caracteres de raiz. Todavia, o sistema radicular foi simplificado no presente estudo em raízes axiais, responsáveis pela arquitetura radicular ao longo do volume do solo e em raízes laterais, que determinam a capacidade em capturar recursos do solo, como o N (Chun *et al.*, 2005).

Os coeficientes de correlação genotípica ( $r_g$ ) apresentaram, independentemente da disponibilidade de N e P, estimativas de baixa a alta magnitude, sendo algumas significativas (Tabela 2). As correlações de alta magnitude detectadas entre os comprimentos de raízes, nas duas disponibilidades de N e P, evidencia a existência de dependência hierárquica entre estas, ou seja, à medida que ocorre aumento do comprimento das matrizes axiais, aumenta, por consequência, os pontos de emergência das raízes laterais. Assim, maiores zonas de captação são originadas, o que auxilia na absorção de N e P. Para Hodge *et al.* (2009) a extensão do sistema radicular é controlado geneticamente, mas a taxa de crescimento de raízes axiais e laterais é modulada pelas condições ambientais. Isto foi comprovado por Zhang *et al.* (2007) em *A. thaliana*. Quando as plantas foram submetidas à alta disponibilidade de N, houve inibição no desenvolvimento do tecido de raízes laterais, mas sob baixa disponibilidade desse nutriente, foi observado efeito contrário. Hund *et al.* (2009) também observaram em linhagens de milho que em alta disponibilidade nutricional as plantas investem no maior crescimento de raízes axiais em detrimento das laterais. Entretanto, esta relação não foi observada neste estudo.

Incrementos na massa de parte aérea seca indicam que podem proporcionar aumento no sistema radicular e maiores comprimentos de raízes devem causar aumentos na eficiência na absorção de N e P, tanto em baixa como em alta disponibilidade desses nutrientes. Para Mollier e Pellerin (1999) quanto maior o crescimento da parte aérea em

milho, maior a superfície fotossinteticamente ativa que, por sua vez, contribui para o balanço global de carbono na planta. Posteriormente, o carbono assimilado é alocado para outros compartimentos, dentre estes o sistema radicular.

Observou-se ausência de correlação entre as eficiências na absorção e utilização de N, nas duas disponibilidades desse nutriente. Resultado similar foi observado em alta disponibilidade de P. No entanto, em baixa disponibilidade, constatou-se correlação negativa e significativa entre ambos os componentes. Notou-se ainda, que nas duas disponibilidades de P os sinais das estimativas foram negativos. Whang *et al.* (2010) relataram que não é possível obter ganhos para ambos os componentes em uma dada disponibilidade de P. Provavelmente nos estádios iniciais, as plantas de milho absorvem mais os nutrientes do que os utilizam. No decorrer do desenvolvimento o componente da utilização tem sua importância aumentada em detrimento da absorção. Assim, tanto em estádios iniciais como em mais avançados, os componentes da eficiência no uso de nutrientes não apresentam proporcionalidade. Isto pode explicar a ausência de correlação entre massa de parte aérea seca e eficiência na utilização de N e P, independentemente da disponibilidade desses nutrientes.

As correlações significativas e de alta magnitude entre o comprimento de raízes laterais e a eficiência na absorção de N, em alta e baixa disponibilidade de N, indica que essas raízes têm um papel importante na absorção deste nutriente, sendo um caráter que pode ser utilizado na seleção indireta e precoce. Prova disto, são os resultados observados em milho por Lazof *et al.* (1992). Estes autores verificaram que a absorção de nitrato pelas raízes laterais foi uma vez e meia maior do que pelas raízes axiais. O alongamento de raízes laterais requer menos biomassa e N investido por unidade radicular quando comparadas as raízes axiais. Segundo Forde e Lorenzo (2001) raízes de menor diâmetro exploram com maior eficácia o volume de solo. Por outro lado, as raízes axiais determinam a configuração do sistema radicular e possibilita melhor desenvolvimento geométrico (Liu *et al.*, 2004). Plantas com menor angulação do sistema radicular em relação à superfície do solo apresentam melhor exploração das camadas mais superficiais do solo e, conseqüentemente, se mostram mais tolerantes à baixa suplementação de P (Rubio *et al.*, 2003).

Não foram detectadas correlações significativas entre raízes laterais e axiais com a eficiência na utilização de N e P, em alta e baixa disponibilidade nutricional. Assim, os comprimentos de raiz demonstram não ter um papel importante na utilização desses nutrientes, de modo que não servem para a seleção indireta de genótipos mais eficientes.

## **Estimativas dos valores genotípicos**

As estimativas dos valores genotípicos das linhagens quanto à eficiência na absorção e eficiência na utilização de N e P estão apresentados na Figura 2. No QI encontram-se as linhagens que apresentaram valores genotípicos positivos para os componentes da eficiência no uso de N e P. No QIII as linhagens que apresentaram valores negativos para ambos os componentes. No QII as linhagens classificadas como eficientes na utilização de N e P, mas ineficientes na absorção destes nutrientes. No QIV linhagens são classificadas de forma contrária. Observou-se que algumas linhagens apresentaram desempenhos bastante contrastantes nos ambientes estudados. Por exemplo, a 8 apresentou valores genotípicos positivos para os componentes da eficiência nutricional na maioria dos ambientes avaliados, com exceção da eficiência na utilização em alto P, enquanto que a 3 apresentou valores genotípicos negativos para quase totalidade dos ambientes.

Pode-se observar que as linhagens classificadas como superiores quanto aos componentes considerados, tiveram desempenho similar, tanto para nas disponibilidades de N como nas de P. Isto indica que estas linhagens podem ser utilizadas na formação de sintéticos e, ou combinações híbridas mais eficientes no uso de N e P. Esta relação entre o desempenho dos genótipos indica que os mecanismos que controlam a eficiência no uso de N e P podem ser pleiotrópicos, ou ainda, epistáticos. Isto pode ocorrer pela dependência de ATP nas rotas metabólicas de absorção e transporte interno do N na planta, as quais demandam uma disponibilidade energética considerável. Assim plantas mais eficientes no uso de N também precisam ser para P.

Para se alcançar aumento na eficiência no uso de determinado nutriente, é necessário o aumento de seus componentes. Assim, para aumento da eficiência no uso de N, as linhagens 8 e 11 apresentaram-se como as mais promissoras, com desempenho similar tanto em baixa como em alta disponibilidade de N. Quanto a eficiência no uso de P em baixa disponibilidade desse nutriente, novamente a linhagem 8 se destacou. A 7 também apresentou valores genotípicos superiores em alta disponibilidade de P. Contudo, torna-se evidente o potencial genético dessas linhagens para a eficiência no uso de N e P. Ademais, pela dispersão dos valores genotípicos nos gráficos, constata-se o desempenho contrastante das linhagens quanto às eficiências na absorção e utilização nos ambientes de N e P, o que possibilita serem utilizadas em estudos de herança da eficiência no uso desses nutrientes.

## **Estimativas de ganhos com a seleção**

As estimativas dos ganhos com a seleção foram obtidas por meio dos valores genotípicos das linhagens consideradas como superiores. Para isto, foi simulada a seleção truncada de 20% das linhagens superiores para cada um dos caracteres avaliados, dentro de cada ambiente, tanto nos ambientes N como de P (Tabela 3).

A partir dos resultados obtidos observou-se que é possível obter ganhos com a seleção para todos os caracteres estudados. Os ganhos preditos com a seleção direta foram superiores aos indiretos para todos os caracteres em todos os ambientes considerados. Entretanto, houve situações em que os ganhos indiretos foram iguais ou similares aos diretos. Isto pode ser observado para as eficiências na absorção em todos os ambientes e para as massas de parte aérea seca em alta disponibilidade de N e baixa de P, quando se promove a seleção de forma indireta por meio da massa de parte aérea seca em baixo N. Outro caso é a eficiência na utilização de N, em baixa e alta disponibilidade de N, que apresentou ganhos satisfatórios com a seleção indireta por meio da eficiência na absorção em baixo P.

O caráter que proporcionou os maiores ganhos com a seleção indireta foi massa de parte aérea seca em baixo N (12,05%). No entanto, este caráter em alto P gera ganhos positivos através da seleção indireta para todos os caracteres. Além disso, apresenta ganhos indiretos em níveis satisfatórios (10,49%). Este caráter proporciona em baixo N os maiores ganhos com a seleção, mas gera ganhos negativos, principalmente para a eficiência na utilização em baixa e alta disponibilidade de P. Para Whang *et al.*, (2010) quando a disponibilidade de um determinado nutriente é limitante, a eficiência na absorção é mais importante que a eficiência na utilização, tendo este último caráter efeito negligenciado em alguns estudos. De acordo com Corrales *et al.*, (2007) maior eficiência no uso de P em milho ocorre devido a ganhos maiores na eficiência na absorção de P em relação a eficiência na utilização em baixo P. Resultados similares foram encontrados por Parentoni e Souza (2008) independentemente da disponibilidade de P. Assim, a massa de parte aérea seca em baixo N deve ser o caráter utilizado em programas de melhoramento que visam selecionar plantas eficientes no uso de N como de P.

Para que isto ocorra, os genes que estão sendo selecionados e que controlam o caráter devem ser os mesmos nos dois ambientes e, ou estejam fortemente ligados. Além disso, a variância genética e, conseqüentemente, a herdabilidade, no ambiente a ser usado na seleção indireta, precisa ser maior que no ambiente de seleção direta. Em melhoramento para eficiência nutricional isto é comum e foi o que se observou neste

estudo. Isto ocorre porque em condições de estresse há redução na variabilidade fenotípica e também na herdabilidade, dificultando assim a seleção, pois os genótipos tendem a ter desempenhos semelhantes. Deste modo, apesar de ter sido constatada interação linhagem x disponibilidade de N ou P significativa, ganhos genéticos para eficiência no uso desses nutrientes, em condição de baixa disponibilidade nutricional, podem ser obtidos por meio da seleção dos mais eficientes em situações ideais de cultivo.

## CONCLUSÕES

- As linhagens de milho apresentam comportamento diferencial quanto aos componentes da eficiência no uso de nitrogênio e fósforo;
- Os comprimentos de raízes laterais e axiais apresentam forte associação com a eficiência na absorção de nitrogênio e fósforo, independentemente da disponibilidade desses nutrientes;
- Os genitores apresentam desempenho contrastante quanto às eficiências na absorção e utilização de nitrogênio e fósforo e linhagens como 8, 11, 3 e 12 devem ser utilizadas em estudos de herança da eficiência no uso desses nutrientes.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez V VH, Novais RF, Dias LE, Oliveira JA. 2000. Determinação e uso do fósforo remanescente. In: Desertificação, o Brasil busca soluções. **Boletim Informativo: Sociedade Brasileira de Ciência do solo** 25: 27-32.

Bänziger M, Lafitte HR. 1997a. Efficiency of secondary traits for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science** 37:1110-1117.

Bänziger M, Lafitte HR. 1997b. Breeding for N-stressed environments: How useful are N-stressed selection environments and secondary traits? In: Edmeades GO, Bänziger M, Mickelson HR, Peña-Valdiva CB. **Developing Drought and Low N-Tolerant Maize**. Proc. Symposium, March 25-29, 1996. CIMMYT, El Batan, Mexico. Mexico, D.F.: CIMMYT.

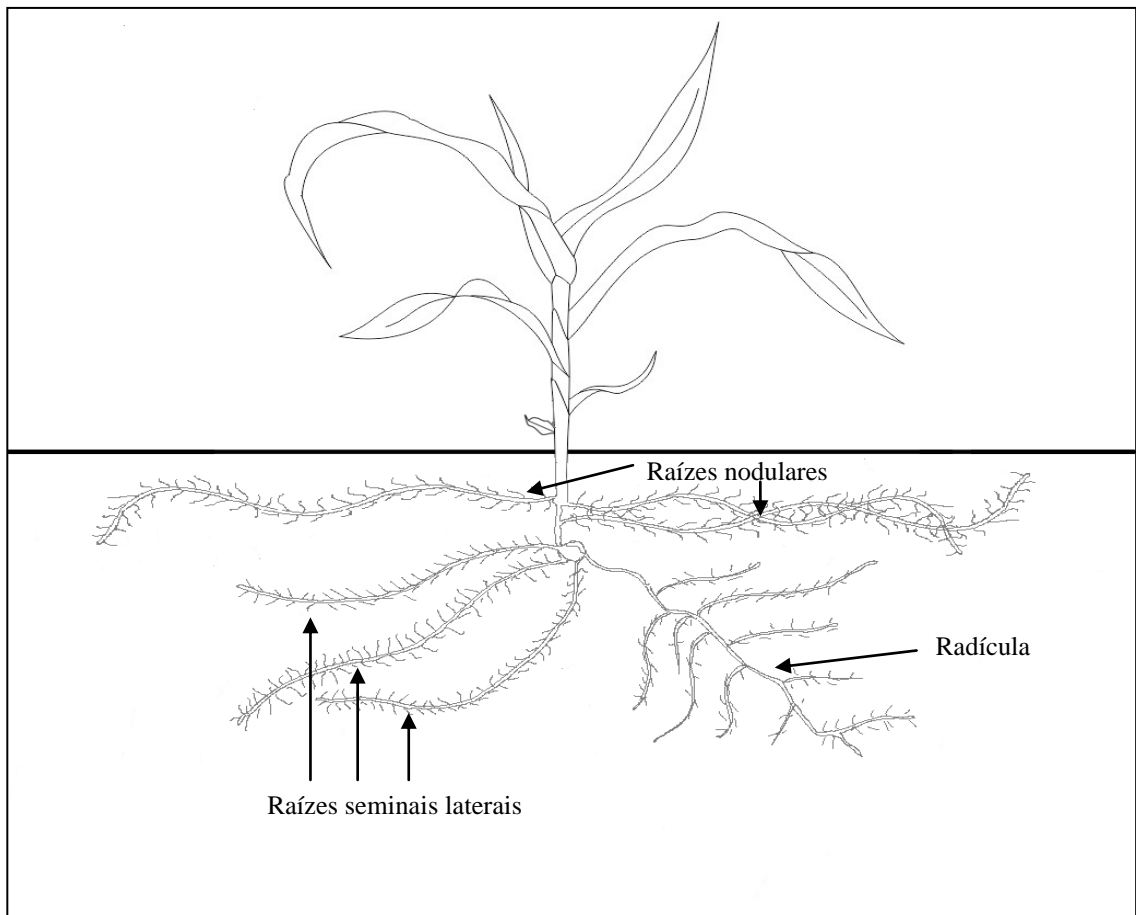
Bouma TJ, Nielsen KL, Koutstaal B. 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant Soil** 218: 185-196.

Bremner JM, Mulvaney CS. 1982. Nitrogen total. In: Page AL (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America Press, p. 595-624.

Chen JY, Xu L, Cai YL, Xu J. 2009. Identification of QTLs for phosphorus utilization efficiency in maize (*Zea mays* L.) across P levels. **Euphytica** 167: 245-252.

- Chun L, Mi GH, Li JS, Chen FJ, Zhang FS. 2005. Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. **Plant Soil** **276**: 369-382.
- Corrales I, Amenós M, Poschenrieder C, Barceló J. 2007. Phosphorus efficiency and root exudates in two contrasting tropical maize varieties. **Journal Plant Nutrition** **30**: 887-900.
- Cui ZL, Zhang FS, Mi GH, Chen FJ, Li F, Chen XP, Li JL, Shi LF. 2009. Interaction between genotypic difference and nitrogen management strategy in determining nitrogen use efficiency of summer maize. **Plant Soil** **317**: 267-276.
- Forde BG, Lorenzo H. 2001. The nutritional control of root development. **Plant and Soil** **232**: 51-68.
- Fritsche-Neto R. 2011. **Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho** (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 38p.
- Gallais A, Hirel B. 2004. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. **Journal of Experimental Botany** **55**: 295-306.
- Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A. 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany** **55**: 2369-2387.
- Hodge A, Berta G, Doussan C, Merchan F, Crespi M. 2009. Plant root growth, architecture and function. **Plant Soil** **321**: 153-187.
- Hund A, Trachsel S, Stamp P. 2009. Growth of axile and lateral roots of maize: I development of a phenotyping platform. **Plant Soil** **325**: 335-349.
- Lazof DB, Rufty TW, Redinbaugh MG. 1992. Localization of nitrate absorption and translocation within morphological regions of the corn root. **Plant Physiology** **100**: 1251-1258.
- Liu Y, Mi GH, Chen FJ, Zhang JH, Zhang FS. 2004. Rhizosphere effect and root growth of two maize (*Zea mays* L.) genotypes with contrasting P efficiency at low P availability. **Plant Science** **167**: 217-223.
- Lynch JP, Brown KM. 2001. Topsoil foraging - an architectural adaptation of plants to low phosphorus availability. **Plant Soil** **237**: 225-237.
- Machado CTT, Machado AT, Furlani AMC. 2004. Variação intrapopulacional em milho para características relacionadas com a eficiência de absorção e utilização de fósforo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** **3**: 77-91.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. 1989. **Avaliação do estado nutricional de plantas**. Piracicaba: Potafos. 201p.
- Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** **74**: 562-564.
- Mollier A, Pellerin S. 1999. Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. **Journal of Experimental Botany** **50**: 477-487.

- Parentoni SN, Souza Jr. CL. 2008. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **43**: 893-901.
- Passos LP. 1996. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa/CNPGL. 223p.
- Presterl T, Groh S, Landbeck M, Seitz G, Schmidt W, Geiger HH. 2002. Nitrogen uptake and utilization efficiency of European maize hybrids developed under conditions of low and high nitrogen input. **Plant Breeding** **121**: 480-486.
- Resende MDV. 2002. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.
- Resende MDV. 2007. **Selegen-Reml/Blup: Sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos**. Colombo: EMBRAPA Florestas. 361p.
- Rubio G, Liao H, Yan XL, Lynch JP. 2003. Topsoil foraging and its role in plant competitiveness for phosphorus in common bean. **Crop Science** **43**: 598-607.
- Ruta N, Liedgens M, Fracheboud Y, Stamp P, Hund A. 2010. QTLs for the elongation of axile and lateral roots of maize in response to low water potential. **Theoretical and Applied Genetics** **120**: 621-631.
- Souza LV, Miranda GV, Galvão JCC, Eckert FR, Mantovani EE Lima RO, Guimarães LJM. 2008. Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **43**: 1517-1523.
- Souza LV, Miranda GV, Galvão JCC, Guimarães LJM, Santos CS. 2009. Capacidade de combinação da produtividade de milho em ambientes com diferentes intensidades de estresses. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **44**: 1297-1303.
- Tilman D, Cassman KG, Matson PA, Naylor R, Polasky S. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. **Nature** **418**: 671-677.
- Trachsel S, Messmer R, Stamp P, Hund A. 2009. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics** **119**: 1413-1424.
- Walk TC, Jaramillo R, Lynch JP. 2006. Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. **Plant Soil** **279**: 347-366.
- Wang X, Shen J, Liao H. 2010. Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? **Plant Science** **179**: 302-306.
- Zhang LX, Li SX, Zhang H, Liang ZS. 2007. Nitrogen rates and water stress effects on production, lipid peroxidation and antioxidative enzyme activities in two maize (*Zea mays* L.) genotypes. 2007. **Journal Agronomy of Crop Science** **193**: 387-397.
- Zhu JM, Kaeppler SM, Lynch JP. 2005. Mapping of QTLs for lateral root branching and length in maize (*Zea mays* L.) under differential phosphorus supply. **Theoretical and Applied Genetics** **111**: 688-695.



**Figura 1.** Parte aérea e sistema radicular de uma planta de milho com quatro folhas completamente expandidas (V4).

**Tabela 1.** Valores do teste da razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de linhagem e da interação linhagem x disponibilidade de N ou P das análises de deviance conjunta, estimativas da variância genotípica ( $\hat{\sigma}_L^2$ ), variância da interação linhagem x disponibilidade de N ou P ( $\hat{\sigma}_{L \times N/P}^2$ ), variância residual ( $\hat{\sigma}_e^2$ ), herdabilidade no sentido amplo ( $h_g^2$ ), média geral e coeficiente de variação (CV) da massa de parte aérea seca em N (MPSN) e P (MPSP), eficiência na absorção de N (EAN) e de P (EAP), eficiência na utilização de N (EUtN) e de P (EUtP), comprimento de raízes laterais em N (CR<sub>LAT</sub>N) e P (CR<sub>LAT</sub>P), comprimento de raízes axiais em N (CR<sub>AXI</sub>N) e P (CR<sub>AXI</sub>P), em 15 linhagens de milho, Viçosa-MG, Brasil

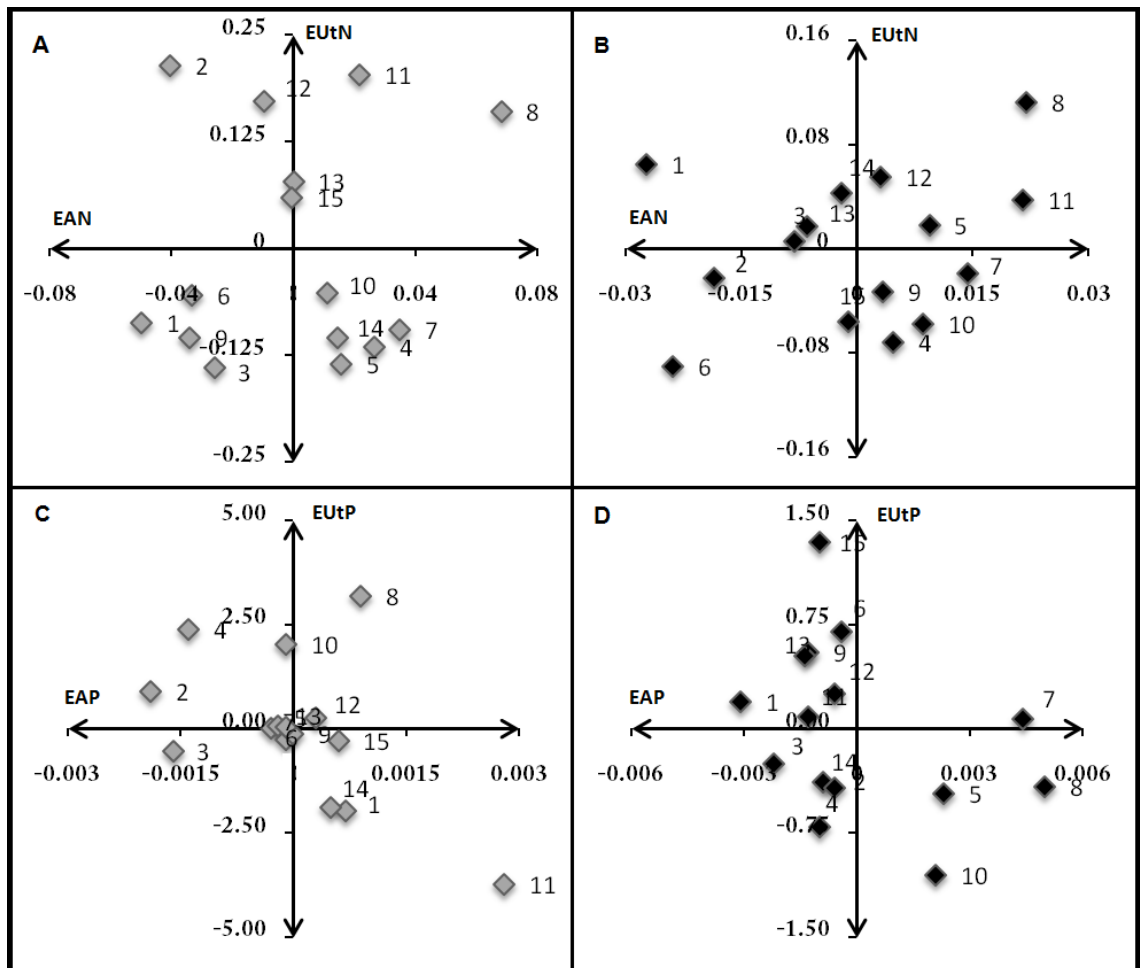
Efeito	MPSN	MPSP	EAN	EAP	EUtN	EUtP	CR <sub>LAT</sub> N	CR <sub>LAT</sub> P	CR <sub>AXI</sub> N	CR <sub>AXI</sub> P
Linhagem <sup>1</sup>	45,6 <sup>***</sup>	35,27 <sup>***</sup>	18,13 <sup>***</sup>	5,63 <sup>**</sup>	3,02 <sup>*</sup>	0,93 <sup>NS</sup>	23,97 <sup>***</sup>	30,51 <sup>***</sup>	22,05 <sup>***</sup>	35,79 <sup>***</sup>
L x N/P <sup>1</sup>	8,23 <sup>**</sup>	39,91 <sup>***</sup>	5,5 <sup>**</sup>	10,35 <sup>***</sup>	2,79 <sup>*</sup>	11,35 <sup>***</sup>	0 <sup>NS</sup>	50,28 <sup>***</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	20,78 <sup>***</sup>
$\hat{\sigma}_L^2$	0,053	0,035	0,0004	0,00	0,0034	0,023	0,0156	0,006	0,0189	0,0052
$\hat{\sigma}_{L \times N/P}^2$	0,019	0,053	0,0004	0,00001	0,0162	2,556	0,0001	0,013	0,0004	0,0048
$\hat{\sigma}_e^2$	0,028	0,018	0,0008	0,00001	0,0520	3,814	0,0201	0,003	0,0263	0,0032
$h_g^2$	0,79	0,55	0,58	0,07	0,17	0,01	0,82	0,44	0,80	0,64
Média	0,83	1,17	0,81	0,72	3,51	23,27	3,74	3,43	3,26	2,85
CV (%)	20,27	11,35	3,39	0,34	6,50	8,39	3,79	1,63	4,98	2,00

<sup>1</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a \*\*\*P = 0,01, \*\*P = 0,05, \*P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.

**Tabela 2.** Estimativas de correlações genóticas entre as massas de parte aérea seca (MPS), eficiências de absorção (EA) e de utilização (EUt), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), em alta (AN) e baixa (BN) disponibilidade de N (diagonal inferior) e alta (AP) e baixa (BP) disponibilidade de P (diagonal superior), em 15 linhagens de milho, Viçosa-MG, Brasil

	EA		EUt		CR <sub>LAT</sub>		CR <sub>AXI</sub>		
	BP	AP	BP	AP	BP	AP	BP	AP	
	0,68**	0,87**	0,24 <sup>NS</sup>	0,16 <sup>NS</sup>	0,63**	0,33 <sup>NS</sup>	0,72**	0,58*	MPS
			-0,52*	-0,35 <sup>NS</sup>	0,58*	0,56*	0,60*	0,72**	EA
EA	0,92**	0,97**			-0,10 <sup>NS</sup>	-0,46 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	-0,33 <sup>NS</sup>	EUt
EUt	0,46 <sup>NS</sup>	0,42 <sup>NS</sup>	0,13 <sup>NS</sup>	0,25 <sup>NS</sup>			0,72**	0,82**	CR <sub>LAT</sub>
CR <sub>LAT</sub>	0,80**	0,81**	0,80**	0,87**	0,17 <sup>NS</sup>	0,21 <sup>NS</sup>			
CR <sub>AXI</sub>	0,79**	0,84**	0,81**	0,88**	0,15 <sup>NS</sup>	0,22 <sup>NS</sup>	0,90**	0,90**	
	BN	NA	BN	NA	BN	AN	BN	AN	
	MPS		EA		EUt		CR <sub>LAT</sub>		

Significativos a \*\*P = 0,01, \*P = 0,05 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste t.



**Figura 2.** Estimativas dos valores genotípicos da eficiência na utilização de N (EUtN) e eficiência na absorção de N (EAN) em baixa (A) e alta disponibilidade de N (B); eficiência na utilização de P (EUtP) e eficiência na absorção de P (EAP) em baixa (C) e alta disponibilidade de P (D), em 15 linhagens de milho, Viçosa-MG, Brasil.

**Tabela 3.** Estimativas de ganhos diretos (diagonal) e indiretos com a seleção (%) para os caracteres massa de parte aérea seca (MPS), eficiência na absorção (EA) e eficiência na utilização (EUt) em baixa (BN) e alta disponibilidade de N (AN) e baixa (BP) e alta disponibilidade de P (AP), em 15 linhagens de milho, Viçosa-MG, Brasil

Caráter	BN			AN			BP			AP			Média
	EA	EUt	MPS	EA	EUt	MPS	EA	EUt	MPS	EA	EUt	MPS	
EA	<b>5,30</b>	-0,48	27,34	1,68	0,20	24,65	-0,03	8,06	7,55	0,39	-1,52	32,57	8,81
BN EUt	-1,14	<b>5,61</b>	6,51	0,25	0,66	13,07	0,06	-3,72	-3,04	-0,13	-0,07	-12,17	0,49
MPS	5,11	2,54	<b>36,78</b>	2,36	1,24	47,10	0,16	-0,71	12,98	0,38	-0,37	36,97	12,05
EA	5,11	2,54	36,78	<b>2,36</b>	1,24	47,10	0,16	-0,71	12,98	0,38	-0,37	36,97	12,05
AN EUt	0,37	2,34	9,83	-0,09	<b>2,20</b>	7,14	0,09	2,12	12,69	0,06	0,04	6,40	3,60
MPS	4,33	2,17	32,84	2,16	1,59	<b>47,29</b>	0,16	-0,78	12,06	0,28	-1,15	20,78	10,14
EA	1,65	2,62	19,27	0,66	2,04	20,71	<b>0,20</b>	-3,62	12,41	0,03	-0,20	-0,15	4,64
BP EUt	4,33	-0,07	23,12	1,44	-0,17	19,98	-0,03	<b>10,86</b>	10,21	0,28	-3,13	8,98	6,32
MPS	2,86	2,67	23,11	1,38	1,04	28,87	0,05	7,84	<b>15,92</b>	0,30	-1,75	19,92	8,52
EA	4,86	-0,66	26,60	1,87	1,05	35,40	0,02	4,66	10,07	<b>0,54</b>	-1,17	49,25	11,04
AP EUt	-2,77	-0,94	-16,13	-0,88	-1,71	-19,19	0,02	-0,97	2,12	-0,13	<b>3,71</b>	10,24	-2,22
MPS	4,20	1,19	25,78	1,44	0,34	23,45	0,06	4,25	13,02	0,39	1,43	<b>50,31</b>	10,49

### 3. ARTIGO II

## IMPORTÂNCIA RELATIVA DOS EFEITOS GÊNICOS DE CARACTERES ASSOCIADOS À EFICIÊNCIA NO USO DE NITROGÊNIO EM MILHO

### RESUMO

A eficiência no uso de nitrogênio (N) (EUN) é importante, pois permite alcançar produtividades satisfatórias com menores custos e de modo sustentável. Uma estratégia para melhorar a EUN é elevar seus componentes, às eficiências na absorção (EAN) e na utilização de N (EUtN). Todavia, o conhecimento da herança desses caracteres é fundamental para orientar o melhorista quanto ao método mais adequado de melhoramento a ser empregado. Assim, objetivou-se identificar: (i) a importância relativa dos componentes da EUN, em alta e baixa disponibilidade de N; (ii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca (MPS) com a EUN e seus componentes e, (iii) o controle genético dos caracteres associados à EUN. Foram avaliadas 41 combinações híbridas experimentais em dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de N: baixa (BN) e alta (AN). Os nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (combinação híbrida x disponibilidade de N). A colheita foi realizada no estágio vegetativo V6 e mensurados os caracteres MPS, os comprimentos de raízes laterais e axiais, a EUN e seus componentes. As análises estatísticas foram realizadas por meio das equações de modelos mistos. Independentemente da disponibilidade de N, a EAN foi o componente mais importante da EUN. Correlações de elevada magnitude foram detectadas entre EAN e EUN, e dessas eficiências com a MPS, tanto em BN como em AN. Em ambas as disponibilidades de N, os efeitos genéticos aditivos apresentaram maior importância para os caracteres associados à EUN. Deste modo, a seleção baseada no desempenho individual de linhagens quanto a MPS, possibilita a obtenção de genótipos com alta EUN.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., capacidade geral e específica de combinação, baixa disponibilidade de nitrogênio, estresse abiótico, REML/BLUP.

## RELATIVE IMPORTANCE OF THE GENETIC EFFECTS OF TRAITS ASSOCIATED TO NITROGEN USE EFFICIENCY IN MAIZE

### ABSTRACT

The nitrogen (N) use efficiency (NUE) is important because it allows to reach satisfactory yields with lower costs and sustainably. A strategy for improving NUE is to increase its components, the acquisition efficiency (NAE) and N utilization efficiency (NUtE). However, knowledge of the inheritance of these traits is essential to guide breeders in the most appropriate method to be used for improvement. Thus, the aimed to identify: (i) the relative importance of the components of NUE, in high and low N; (ii) the relationship of system root and shoot dry mass (SDM) with NUE and its components and; (iii) the genetic control of traits associated with the NUE. Were evaluated 41 hybrid combinations in two experimental environments that represented contrasting conditions of availability of N: low (LN) and high (HN). The nutrients were supplied by way of nutrient solution from the seventh day after germination. Were used a randomized block design with two replications in factorial simple (hybrid combination x availability of N). Plants were harvested at vegetative stage V6 and were measured SDM, lengths of axial and lateral roots, NUE and its components. Statistical analysis was performed using the mixed model equations. Independently availability of N, the NAE was the most important component of the NUE. Were detected high magnitude correlations between NAE and NUE, and these efficiencies with the SDM, in low and high N. In both the availability of N, additive genetic effects were more important to the traits associated with the NUE. Thus, selection based on performance of individual inbred lines to MPS, allows to obtain genotypes with high NUE.

**Key-words:** *Zea mays* L., general and specific combining ability, low availability nitrogen, abiotic stress, REML/BLUP.

## INTRODUÇÃO

O nitrogênio (N) é constituinte de vários compostos em plantas, dos quais se destacam aminoácidos, ácidos nucléicos, proteínas, enzimas e clorofila. Conseqüentemente, as principais reações bioquímicas envolvem a presença deste elemento, o que explica seu grande requerimento pelos vegetais. Prova disso, é a forte associação entre o aumento da adubação nitrogenada e o ganho em produtividade das espécies cultivadas (Hirel *et al.*, 2007).

Apesar disso, o elevado custo com adubação nitrogenada tem inviabilizado, em algumas situações, o aumento da produção de pequenos agricultores, principalmente em regiões marginais de cultivo. Por outro lado, nos países desenvolvidos, em que quantidades demasiadas de N são fornecidas as culturas, ocorrem problemas especialmente nas áreas da saúde e do meio ambiente, em razão do seu grande potencial poluidor (Ahlgren *et al.*, 2008). Assim, entre os desafios para os próximos anos estão o de suprir as crescentes necessidades da população mundial, elevar a segurança alimentar e melhorar a utilização de recursos não renováveis. Isto pode ser alcançado por meio do desenvolvimento de uma agricultura altamente produtiva, com menores custos e sustentável. Neste sentido, torna-se importante o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de nitrogênio (EUN).

Moll *et al.* (1982) definiram a EUN como a relação entre a massa de grãos ou de parte aérea por unidade de N disponível para a planta (aplicado mais o remanescente no solo). Segundo esses autores, a EUN é constituída por dois componentes, (i) eficiência na absorção de nitrogênio (EAN), mensurado pela relação entre a quantidade total de N extraído da planta e a quantidade desse nutriente disponível no solo e, (ii) eficiência na utilização de nitrogênio (EUtN), obtido pela razão entre a massa de grãos ou de parte aérea e a quantidade total de N extraído da planta. Dessa forma, valores superiores da EUN podem ser obtidos pelo aumento da EAN e, ou EUtN.

Entre as propostas para melhorar a EUtN destacam-se: aumento da atividade enzimática nas raízes (Chevalier e Scherader, 1977), aumento da quantidade de massa seca produzida por unidade de N (Maranville *et al.*, 1980) e o aumento da quantidade de N total no grão (Tsai *et al.*, 1980). No caso da EAN, aumentos significativos podem ser alcançados na aquisição de N através do aumento em extensão do sistema radicular, principalmente em ambientes com baixa disponibilidade de N (Worku *et al.*, 2007; Dawson *et al.*, 2008; Garnett *et al.*, 2009).

Le Gouis *et al.* (2000) verificaram que a variabilidade genética detectada para a EUN, em condições limitantes de N, ocorreu em função das diferenças quanto a EAN. No entanto, Gallais e Hirel (2004) observaram que, nessas condições, a EUtN foi o componente mais importante para a EUN. Neste sentido, Oliveira (2009) constatou em baixa disponibilidade de N, ganhos indiretos de 24,93% para EUN, através da atividade da enzima glutamina sintetase, evidenciando assim a importância do componente EUtN para a EUN. Entretanto, em razão da grande quantidade de genótipos obtida por ciclo nos programas de melhoramento, é pouco viável discriminá-los com base na atividade de enzimas. Isto porque a metodologia necessária é morosa e custosa. Assim, identificar caracteres de mais fácil mensuração é fundamental para o processo de seleção de genótipos superiores.

A validação de métodos de avaliação precoce ou de seleção indireta em plantas é de grande interesse para programas de melhoramento para condições de estresses abióticos, pois aceleram o processo de seleção, descartando de imediato os genótipos menos promissores (Machado *et al.*, 2004). Por exemplo, Miranda *et al.* (2005) descartaram no florescimento, linhagens de milho com baixa eficiência no uso de N por meio da utilização de clorofilômetro. Para isso, o conhecimento da relação entre caracteres é de grande valia, principalmente se os caracteres de interesse apresentam baixa herdabilidade e, ou tenham problemas de mensuração e identificação (Falconer, 1981).

Dessa forma, Chun *et al.* (2005) objetivaram identificar combinações híbridas com alta EUN por meio do sistema radicular. Todavia, a influência dos caracteres de raiz na EUN ainda é pouco conhecida. Em razão disso, Paschold *et al.* (2009) e Lima (2010) investigaram a base genética de comprimento de raiz em milho e constataram que os efeitos gênicos não aditivos foram mais importantes. Adicionalmente, Chun *et al.* (2005) verificaram que combinações híbridas apresentaram desempenho diferencial, quanto a esses caracteres, conforme quantidade de N disponibilizada. Esses resultados sugerem que para selecionar híbridos de milho com base nos caracteres de raiz, é necessário avaliá-los em disponibilidades contrastantes de N.

O conhecimento das bases genéticas relacionadas ao desempenho de combinações híbridas é importante para designar estratégias apropriadas de melhoramento (Falconer 1981). Embora o aumento da EUN seja objetivo de vários programas de melhoramento, poucas informações estão disponíveis sobre o controle genético desse caráter e de seus componentes. Além do mais, existe certa contradição nos resultados desses estudos. Por exemplo, Below *et al.* (1997) avaliaram combinações híbridas num delineamento

dialélico em alta e baixa disponibilidade de N e relataram que os efeitos genéticos aditivos e não aditivos foram significativos para todos os caracteres associados a EUN, em ambos os níveis de N. Entretanto, esses autores concluíram, com base na magnitude das diferenças desses efeitos, que a maior fração no controle genético da EUN está associado aos efeitos aditivos. Por outro lado, Souza *et al.* (2008) verificaram que em baixa disponibilidade de N tanto os efeitos genéticos aditivos como os não aditivos são importantes no controle da EUN.

Neste contexto, objetivou-se identificar: (i) a importância relativa dos componentes da eficiência no uso de N, em alta e baixa disponibilidade de N; (ii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca com a eficiência no uso de N e seus componentes e, (iii) o controle genético dos caracteres associados à eficiência no uso de N.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material genético e condução experimental**

Foram utilizados dois grupos de linhagens provenientes do banco de germoplasma do Programa Milho® da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Grupo I (GI) - composto de sete linhagens ( $p = 1, 2, \dots, 7$ ) contrastantes para eficiência no uso de fósforo (EUP); Grupo II (GII) - composto de sete linhagens ( $p' = 1', 2', \dots, 7'$ ) contrastantes para eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Através da condução de um fatorial interpopulacional desbalanceado, envolvendo os dois grupos de linhagens, obteve-se 41 combinações híbridas experimentais. Os cruzamentos foram realizados de forma recíproca, sendo misturadas as sementes da mesma combinação, desconsiderando, portanto, a herança extra cromossômica.

Estas 41 combinações híbridas foram avaliadas em dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de N: baixa (BN) e alta (AN). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (combinação híbrida x disponibilidade de N). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Campo Experimental Prof. Diogo Alves de Mello, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFV (20°45'14"S; 42°52'53"W), durante o mês de outubro de 2010.

As sementes foram esterilizadas, lavadas com água deionizada e posteriormente germinadas em bandejas com células individuais. Foram usadas três sementes por

combinação híbrida. Após a emergência, transplantou-se uma plântula de cada combinação híbrida para vasos cilíndricos de PVC com 4 dm<sup>3</sup> (10cm de diâmetro x 50cm de altura), constituindo assim uma parcela. O substrato utilizado foi preparado pela mistura de areia lavada em água deionizada e vermiculita, na proporção de 1:1, segundo metodologia proposta por Walk *et al.* (2006).

A solução nutritiva foi fornecida a cada dois dias, a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. Utilizou-se a solução descrita por Chun *et al.* (2005) contendo em mmol L<sup>-1</sup> para o AN: 2,0 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 0,75 K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,65 MgSO<sub>4</sub>, 0,1 KCl, 0,25 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> MnSO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-4</sup> CuSO<sub>4</sub>, 1 x 10<sup>-3</sup> ZnSO<sub>4</sub>, 5 x 10<sup>-6</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 0,1 Fe-EDTA. Para o BN a solução continha 0,2 mmol L<sup>-1</sup> de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, ou seja, concentração dez vezes menor que no AN. O Ca<sup>2+</sup> foi compensado pelo CaCl<sub>2</sub>.

As plantas foram colhidas no estágio vegetativo V6, isto é, seis folhas completamente expandidas, 30 dias após a semeadura. A parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular e acondicionada em sacos de papel. Posteriormente, procedeu-se a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60° C por 72 horas, onde se alcançou massa constante.

### **Mensuração de caracteres**

Todo o sistema radicular, desde a radícula até as raízes nodais (Figura 1), foi avaliado pela análise de imagens, utilizando o software WinRHIZO Pro 2009c (Basic, Reg, Pro & Arabidopsis for Root Measurement) acoplado a um scanner EPSON *Expression* 10.000 XL equipado com luz adicional (TPU), com definição de 400 dpi, conforme descrito por Bouma *et al.* (2000). As dez classes de diâmetro fornecidas pelo software foram simplificadas em apenas duas, conforme metodologia proposta por Trachsel *et al.* (2009). Assim, para o comprimento das raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>), foram considerados fragmentos com diâmetro menor ou igual a 0,5mm, e para o comprimento das raízes axiais (CR<sub>AXI</sub>), fragmentos com diâmetro maior que 0,5mm.

Para a quantificação do teor de N, extraíram-se amostras de 0,2 g da massa de parte aérea seca (MPS) por planta e foram feitas a digestão, a destilação e a titulação pelo método descrito por Bremner e Mulvaney (1982). O conteúdo de N foi estimado a partir do seu teor, extrapolando-o por unidade de MPS.

A eficiência no uso de N e seus componentes, a eficiência na absorção (EAN) e a eficiência na utilização de N (EUtN), foram calculadas de acordo com o proposto por Moll *et al.* (1982):

$$EAN = \frac{N(\text{absorvido})}{N(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUtN = \frac{MPS}{N(\text{absorvido})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUN = EAN \times EUtN = \frac{MPS}{N(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

### Análises de deviance e componentes de variância

Na análise de modelos mistos, os efeitos do modelo não são testados via teste  $F$ , assim como se faz no método da análise de variância. Nesse caso, para os efeitos aleatórios, o recomendado é o teste da razão de verossimilhança (LRT), em que, um quadro similar ao da análise de variância é elaborado e denominado por Análise de Deviance (ANADEV), estabelecida pelos seguintes passos (Fritsche-Neto, 2011): i) obter o ponto de máximo do logaritmo da função de verossimilhança residual (Log L) para modelos com e sem o efeito a ser testado; ii) obter a deviance  $D = -2 \text{ Log L}$  para modelos com e sem o efeito a ser testado; iii) obter a diferença entre as deviances para modelos com e sem o efeito a ser testado, obtendo a razão de verossimilhança (LR); iv) testar, via LRT, a significância dessa diferença usando o teste qui-quadrado com 1 grau de liberdade, pois estas estimativas tendem a ter este tipo de distribuição.

Para a obtenção dos componentes de variância e das estimativas dos parâmetros genéticos, submeteram-se os dados às análises por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/ Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP), conforme descrito por Resende (2002). Inicialmente, procederam-se as análises individuais, isto é, para cada disponibilidade de N, considerando o seguinte modelo:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Zm} + \mathbf{Wf} + \mathbf{Tc} + \mathbf{e}$$

em que:  $\mathbf{y}$  é o vetor das médias fenotípicas das combinações híbridas;  $\mathbf{r}$  é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral;  $\mathbf{m}$  é o vetor dos efeitos de genitores do Grupo II (assumidos como aleatórios), em que,  $m \sim N(0, M)$ , sendo  $M = I\sigma_m^2$ ;  $\mathbf{f}$  é o vetor dos efeitos de genitores do Grupo I (assumidos como aleatórios), em que,  $f \sim N(0, F)$ , sendo  $F = I\sigma_f^2$ ;  $\mathbf{c}$  é o vetor dos efeitos da capacidade específica de combinação do Grupo I com o II (assumidos como aleatórios), em que,  $c \sim N(0, C)$ , sendo  $C = I\sigma_c^2$ ;  $\mathbf{e}$  é o vetor de erros, sendo que  $e \sim N(0, R)$  e  $R = I\sigma_e^2$ .  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$ ,  $\mathbf{W}$  e  $\mathbf{T}$  são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{m}$ ,  $\mathbf{f}$ , e  $\mathbf{c}$  ao vetor  $\mathbf{y}$ .

As equações de modelos mistos para a predição de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{m}$ ,  $\mathbf{f}$ , e  $\mathbf{c}$  equivalem a:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} & \mathbf{X}'\mathbf{W} & \mathbf{X}'\mathbf{T} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda_1 & \mathbf{Z}'\mathbf{W} & \mathbf{Z}'\mathbf{T} \\ \mathbf{W}'\mathbf{X} & \mathbf{W}'\mathbf{Z} & \mathbf{W}'\mathbf{W} + \lambda_2 & \mathbf{W}'\mathbf{T} \\ \mathbf{T}'\mathbf{X} & \mathbf{T}'\mathbf{Z} & \mathbf{T}'\mathbf{W} & \mathbf{T}'\mathbf{T} + \lambda_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{m} \\ \mathbf{f} \\ \mathbf{c} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \\ \mathbf{W}'\mathbf{y} \\ \mathbf{T}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

em que,  $\lambda_1 = \frac{1-h_m^2-h_f^2-h_c^2}{h_m^2}$ ,  $\lambda_2 = \frac{1-h_m^2-h_f^2-h_c^2}{h_f^2}$  e  $\lambda_3 = \frac{1-h_m^2-h_f^2-h_c^2}{h_c^2}$

$h_m^2$  é a herdabilidade no sentido restrito dos genitores do GI;  $h_f^2$  é a herdabilidade no sentido restrito dos genitores do GII e  $h_c^2$  é o coeficiente de determinação dos efeitos da capacidade específica de combinação do GI com GII.

Posteriormente, foram realizadas as análises conjuntas, isto é, para as duas disponibilidades de N, considerando um modelo simplificado, conforme descrito por Resende (2002):

$$\mathbf{y} = \mathbf{X}\mathbf{r} + \mathbf{Z}\mathbf{g} + \mathbf{W}\mathbf{i} + \mathbf{e}$$

em que:  $\mathbf{y}$  é o vetor das médias fenotípicas das combinações híbridas;  $\mathbf{r}$  é o vetor dos efeitos de repetição dentro das disponibilidades de N (assumidos como fixos) somados à média geral;  $\mathbf{g}$  é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), em que,  $g \sim N(0, G)$ , sendo  $G = I\sigma_g^2$ ;  $\mathbf{i}$  é o vetor da interação combinação híbrida x disponibilidade de N (assumidos como aleatórios), em que,  $i \sim N(0, I_{ga})$ , sendo  $I_{ga} = I\sigma_{ga}^2$ ;  $\mathbf{e}$  é o vetor de erros, sendo que  $e \sim N(0, R)$  e  $R = I\sigma_e^2$ .  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$  e  $\mathbf{W}$  são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  ao vetor  $\mathbf{y}$ .

As equações de modelo misto para a predição de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  equivalem a:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} & \mathbf{X}'\mathbf{W} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda_1 & \mathbf{Z}'\mathbf{W} \\ \mathbf{W}'\mathbf{X} & \mathbf{W}'\mathbf{Z} & \mathbf{W}'\mathbf{W} + \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{g} \\ \mathbf{i} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \\ \mathbf{W}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

em que,  $\lambda_1 = \frac{1-h_g^2-h_i^2}{h_g^2}$  e  $\lambda_2 = \frac{1-h_g^2-h_i^2}{h_i^2}$

$h_g^2$  é a herdabilidade no sentido amplo das combinações híbridas;  $h_i^2$  é o coeficiente de determinação da interação combinação híbrida x disponibilidade de N.

Para a resolução das equações de modelos mistos e a obtenção dos valores genéticos, os componentes de variância genéticos e não genéticos foram assumidos desconhecidos. Estes foram estimados pelo método REML, utilizando o pacote estatístico computacional SELEGEM-REML/BLUP (Resende, 2007).

## Estatística e teste dos efeitos fixos

A estatística do efeito de ambiente (disponibilidade de N), assumido como fixo,

foi estimada a partir da expressão  $F_{cal} = t_{calc}^2 = \left( \frac{\bar{x}_{BN} - \bar{x}_{AN}}{\sqrt{\frac{2QMR}{r}}} \right)^2$ , onde  $\bar{x}_{BN}$  e

$\bar{x}_{AN}$  correspondem às médias do mesmo caráter em baixa e alta disponibilidade de N, respectivamente;  $QMR$  o quadrado médio do resíduo da análise conjunta e  $r$  o número de repetições.

As estimativas das estatísticas  $F_{cal}$ , foram testadas a 1 e a 5% de probabilidade pelo teste  $F$ .

## Correlações entre ambientes e caracteres

Visando conhecer a relação entre as respostas das combinações híbridas em baixa e alta disponibilidade de N ( $r_{AN \times BN}$ ), estimou-se a correlação entre o *rank* dessas combinações, considerando o desempenho do mesmo caráter nas duas disponibilidades de N. Para isso, utilizou-se o coeficiente de correlação de postos de Spearman ( $\rho$ ), pela seguinte expressão  $\rho = \frac{1 - 6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$ , onde  $d_i^2$  é a diferença entre o posto de cada valor correspondente em baixa e alta disponibilidade de N e  $n$  o número de pares de valores.

Para a relação entre os diferentes caracteres numa mesma disponibilidade de N, estimou-se os coeficientes de correlação genotípica ( $r_g$ ) por meio da expressão  $r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 \hat{\sigma}_{gy}^2}}$ , em que,  $\hat{\sigma}_{gxy}$  é o estimador da covariância genotípica entre os caracteres em uma dada disponibilidade de N;  $\hat{\sigma}_{gx}^2$  e  $\hat{\sigma}_{gy}^2$  são estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres.

As estimativas de  $r_g$  foram testadas a 1 e 5% de probabilidade pelo teste t.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Análises de deviance e parâmetros genéticos

Considerando os resultados das análises de deviance individuais em baixa disponibilidade de N, observa-se que os genitores do GI não apresentaram diferença significativa para o efeito de capacidade geral de combinação (CGC) quanto aos

caracteres avaliados (Tabela 1). No entanto, os genitores do GII diferiram significativamente para o efeito de CGC para a maioria dos caracteres, com exceção da EUtN. Essas diferenças indicam existência de variabilidade genética aditiva e que os genitores contribuem de maneira diferenciada na transmissão de alelos que controlam a EUN. Esses resultados já eram esperados, pois foram identificados em experimento preliminar, genitores contrastantes quanto à eficiência no uso de fósforo (EUP) para constituir o GI e quanto à EUN para compor o GII, o que comprova que a identificação desses genitores foi eficiente. Por outro lado, não foi constatada diferença significativa para o efeito de capacidade específica de combinação (CEC) para os caracteres estudados. Isto indica que para esta condição de disponibilidade de N, as combinações híbridas não apresentaram em geral, desvios significativos em relação ao comportamento médio dos genitores para esta condição de disponibilidade de N.

Em alta disponibilidade de N, os genitores do GII apresentaram diferença significativa para o efeito de CGC em todos os caracteres avaliados (Tabela 2). Embora os genitores do GI tenham sido identificados quanto à EUP, identificou-se efeito significativo de CGC entre os genitores desse grupo para alguns caracteres, dentre esses a EUN. Nesta condição de disponibilidade de N, os mecanismos que controlam a EUN e EUP podem ser pleiotrópicos ou epistáticos. Isto porque o N e o P interagem sinergicamente, pois quando ambos são aplicados em doses adequadas, promovem aumentos na produtividade de grãos, maiores que aquelas obtidas com aplicação de cada nutriente isoladamente (Ziadi *et al.*, 2007). Provavelmente o melhor aproveitamento de N na presença de P, ocorra pelo envolvimento desse último nutriente, nos processos metabólicos do N. A absorção e o transporte de nitrato para a parte aérea é um processo ativo que requer grande quantidade de energia metabólica, pois ocorre contra um gradiente de potencial eletroquímico, necessitando, portanto, de substâncias redutoras e de ATP, constituídas por fosfato inorgânico. Além disso, Rufty Jr. *et al.* (1993) identificaram efeito regulatório específico exercido pelo P na síntese e atividade dos transportadores de nitrato presentes nas membranas celulares. Portanto, é provável que os cultivares que são eficientes no uso de N em condições ideais de suplementação deste nutriente, também sejam eficientes no uso de P.

As diferenças significativas constatadas para a EUN em baixa disponibilidade de N foi explicada pela variabilidade genética aditiva detectada para o componente EAN, enquanto que em alta disponibilidade desse nutriente foi devido a variabilidade existente tanto para EAN como para EUtN (Tabelas 1 e 2). Contudo, para ambas as disponibilidades de N, os efeitos genéticos aditivos apresentaram maior importância

para os caracteres associados à EUN. Embora tenham sido detectadas diferenças significativas entre CGC e CEC para os caracteres associados à EUN, Below *et al.* (1997) atribuíram, pela superioridade dos valores da CGC, maior importância dos efeitos aditivos para os componentes da EUN.

Foram observadas pequenas diferenças entre as magnitudes das estimativas de herdabilidades no sentido amplo e restrito, especialmente em alta disponibilidade de N. Assim, pode-se verificar que a variância genotípica é explicada, em grande proporção, pela variância aditiva, comprovado pelos baixos valores da razão  $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ . Dessa forma, fica evidente que os efeitos não-aditivos têm menor importância para os componentes da EUN, como já relatado por Souza *et al.* (2008) e Worku *et al.* (2008). Portanto, a seleção pode ser realizada pelo desempenho individual das linhagens, pois as combinações híbridas obtidas entre seus cruzamentos também serão superiores quanto à EUN.

Para a maioria dos caracteres, as estimativas de média e herdabilidade foram em geral, menores em baixa disponibilidade de N. Segundo Coque e Gallais (2006) em condições de estresse abiótico ocorre redução da variabilidade genética e, por consequência da herdabilidade, pois os genótipos tendem a apresentar desempenhos similares, dificultando com isso a seleção. As exceções foram para a EUN e seus componentes. Isto ocorre porque a maioria desses caracteres é mensurada em função da MPS e esta não foi reduzida na mesma proporção que a disponibilidade de N (Figura 2). Enquanto que a concentração desse nutriente foi reduzida em dez vezes, a produção média de MPS reduziu pela metade. Assim, para cada miligrama de N absorvido na condição de baixa disponibilidade, foram produzidos mais de 11 miligramas de MPS por planta, enquanto que em alta disponibilidade um pouco mais de 2 miligramas. Isto indica que existem combinações híbridas que requerem menores quantidades de N para produzir as mesmas quantidades de MPS produzida por outras em condição ideal de suprimento desse nutriente.

Observou-se pelas análises de deviance conjuntas que os níveis de N foram suficientemente contrastantes para discriminar o desempenho das combinações híbridas quanto à maioria dos caracteres, exceto para os comprimentos de raízes (Tabela 3). Verificou-se que o efeito de combinações híbridas apresentou diferença não significativa para os caracteres avaliados. A variância genética detectada na análise conjunta corresponde à média das variâncias em todos os ambientes avaliados, subtraída a interação. Por esta razão, quando se trabalha com ambientes contrastantes é comum que a variabilidade genética apresentada em cada ambiente seja “consumida” pela

interação na análise conjunta. Contudo, as combinações híbridas responderam diferentemente quando submetidas às condições de baixa e alta disponibilidade de N, evidenciado pelos efeitos significativos da interação combinação híbrida x disponibilidade de N (CH x N), com exceção da EUtN. Isto indica que a seleção deveria ser realizada em ambientes específicos e não em função do comportamento médio, pois os alelos que controlam a expressão de um determinado caráter em baixa suplementação nutricional são, pelo menos parcialmente, diferentes dos alelos que controlam esse mesmo caráter em condição ideal de suplementação (Souza *et al.*, 2009). Entretanto, as correlações entre os desempenhos das combinações híbridas em baixa e alta disponibilidade de N ( $r_{AN \times BN}$ ) apresentaram estimativas de média a alta magnitude para todos os caracteres avaliados. Isto é um indicativo de interação do tipo simples (Resende 2002), pois reflete a consistência da superioridade dos genótipos mesmo mudando a disponibilidade de N, ou seja, as combinações híbridas com desempenho superior em baixa disponibilidade são também as melhores em alta. Desse modo, híbridos de milho podem ser avaliados em um único ambiente (baixa ou alta disponibilidade de N) e as decisões tomadas nesse o será para os demais (Falconer, 1981). Com isso, economizar-se-ia recurso, tempo e mão de obra.

Os coeficientes de variação, tanto das anadevs individuais quanto das conjuntas, foram relativamente altos para alguns caracteres. Todavia, estão no intervalo observado para estudo dessa natureza (Bänziger *et al.*, 1997a; Bänziger e Lafitte 1997b; Machado *et al.*, 2004), o que indica boa precisão experimental e alta confiabilidade das estimativas.

### **Correlações entre caracteres**

Apesar de o sistema radicular ser essencial na absorção de N, pouco é conhecido sobre a relação deste com a absorção de N. Neste sentido, foram estimados os coeficientes de correlação da EUN e de seus componentes, com os caracteres de raiz. Todavia, o sistema radicular foi simplificado no presente estudo em raízes axiais, responsáveis pela arquitetura radicular ao longo do volume do solo e em raízes laterais, que determinam a capacidade em capturar recursos do solo, como o N (Chun *et al.*, 2005).

Os coeficientes de correlação genotípica ( $r_g$ ) apresentaram, independentemente da disponibilidade de N, estimativas significativas de média a alta magnitude (Tabela 4). A alta correlação detectada entre os comprimentos de raízes axiais e laterais, nas duas disponibilidades de N, evidencia a existência de dependência hierárquica entre estas, ou

seja, à medida que ocorre aumento do comprimento das matrizes axiais, aumenta, por consequência, os pontos de emergência das raízes laterais. Assim, maiores zonas de captação são originadas, o que auxilia na absorção de N.

Incrementos na MPS indicam que podem proporcionar aumento no sistema radicular e maiores comprimentos de raízes devem causar aumentos na EAN, tanto em baixa como em alta disponibilidade de N. Para Mollier e Pellerin (1999) quanto maior o crescimento da parte aérea em milho, maior a superfície fotossinteticamente ativa que, por sua vez, contribui para o balanço global de carbono na planta. Posteriormente, o carbono assimilado é alocado para outros compartimentos, dentre estes o sistema radicular.

Observou-se correlação negativa e significativa entre EAN e EUtN nas duas condições de disponibilidade de N. Provavelmente nos estádios iniciais, as plantas de milho absorvem mais os nutrientes do que os utilizam. No decorrer do desenvolvimento o componente da utilização tem sua importância aumentada em detrimento da absorção. Assim, tanto em estádios iniciais como em mais avançados, os componentes da eficiência no uso de nutrientes não apresentam proporcionalidade. Gallais e Hirel (2004) observaram o mesmo em milho e propuseram três hipóteses para explicar esse fenômeno: (i) as atividades dos transportadores de N e das enzimas envolvidas na assimilação desse nutriente ocorrem em proporção diferente; (ii) há degradação de proteínas foliares (em específico, rubisco) que contribuem adicionalmente para a produção; e (iii) a utilização do N é mais pronunciada onde a absorção é reduzida ou interrompida.

Para Le Gouis *et al.* (2000) o componente mais importante para a EUN, quando a disponibilidade de N é limitada, é a EAN. Todavia, Gallais e Hirel (2004) reportaram que em condições ideais de N a variabilidade genética para a EUN ocorre em função da diferença na EAN, enquanto que em baixa disponibilidade é função da EUtN. Entretanto, por meio de correlações de elevada magnitude, verificou-se no presente estudo que independentemente da disponibilidade de N as diferenças genéticas quanto à EUN foi devido a EAN (Tabela 4). A ausência de correlação entre EUtN e EUN é um indicativo de redução da diversidade alélica quanto à EUtN, uma vez que os cultivares modernos, em sua quase totalidade, são selecionados quanto a responsividade em condições de alta disponibilidade nutricional.

Apesar de ter sido constatada correlação positiva e significativa entre comprimentos de raízes e a EUN, é provável que não seja possível selecionar genótipos mais eficientes com base nestes caracteres radiculares. Isto porque Pereira (2011) e

Lima (2010), por meio da análise de trilha, identificaram que a alta correlação entre os caracteres supracitados se deve ao elevado efeito indireto via MPS, seja em condição ideal de suprimento de N ou de estresse causado pelo baixo fornecimento deste nutriente. Para estes autores, caracteres como MPS e EAN podem proporcionar maiores impactos em termos de ganhos genéticos.

### **Estimativas de CGC**

No presente estudo foi verificada correlação linear e positiva entre MPS e EUN nas duas condições de disponibilidade de N. Diante destes resultados e dos verificados nos trabalhos de Pereira (2011) e Lima (2010) e, por terem ainda, sido constatadas diferenças significativas da EAN nas duas disponibilidades de N, plotou-se em um plano cartesiano, as estimativas de CGC dos genitores quanto a MPS e EAN (Figura 3). No quadrante I (QI), se encontram os genitores com valores positivos dos caracteres tanto em baixa como em alta disponibilidade de N. Analogamente, no QIII estão os genitores que apresentaram valores negativos dos caracteres para ambas as disponibilidades de N. No QII os genitores que apresentaram valores negativos em baixa disponibilidade de N, mas positivos em alta. No QIV o contrário, ou seja, positivos em baixa, mas negativos em alta. Com isto, pôde-se verificar que o desempenho das linhagens genitoras com base nas estimativas de CGC da MPS, coincidiu em 92,8% (13 dos 14 genitores avaliados), com as estimativas de CGC da EAN. A única exceção foi o desempenho do genitor 2, que teve a estimativa de CGC da MPS plotada no QI, enquanto para a da EAN foi plotada no QIV. Esses resultados corroboram com os obtidos por Pereira (2011) que identificou a MPS como caráter fundamental na seleção precoce e indireta de genótipos de milho com alta EUN. Fritsche-Neto *et al.* (2010), também ressaltaram a importância desse caráter na seleção de genótipos com alta EUP.

Para Bignotto *et al.* (2000) a MPS é um indicador de produtividade. Isso se deve ao índice de colheita (IC), que se constitui na fração dos grãos produzidos em relação à massa da planta seca. Em milho esses valores estão estagnados há décadas, os quais se encontram próximos de 0,60 (Raun *et al.*, 1989). Neste sentido, valores adicionais em MPS podem implicar em aumento de produtividade, devendo, portanto, ser um caráter empregado em programas de melhoramento de plantas (Donald e Hamblin, 1976). Todavia, são necessários estudos que relacionem o desempenho de genótipos com base em MPS, em estádios precoces de desenvolvimento, com a produtividade no final do ciclo. Uma vez constatada relação, a seleção para se identificar genótipos promissores

para condições de estresse causado pela baixa disponibilidade de N poderá ser baseada em MPS, o que ocasionará redução do tempo e do trabalho demandado.

## CONCLUSÕES

- Independentemente da disponibilidade de nitrogênio, a eficiência na absorção é o componente mais importante da eficiência no uso de N em milho;
- A forte associação entre massa de parte aérea e eficiência na absorção, permite a seleção baseada neste primeiro caráter e assim podem ser obtidos genótipos mais eficientes no uso de N;
- Os efeitos genéticos aditivos têm maior importância para os caracteres associados à eficiência no uso de N, de modo que a seleção pode ser realizada pelo desempenho individual de linhagens;
- A interação combinação híbrida x disponibilidade de N é predominantemente do tipo simples, de forma que a seleção pode ser realizada em uma única disponibilidade de N.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahlgren S, Baky A, Bernesson S, Nordberg A, Norén O, Hansson P. 2008. Ammonium nitrate fertiliser production based on biomass – environmental effects from a life cycle perspective. **Bioresource Technology** **99**: 8034-8041.

Bänziger M, Lafitte HR. 1997a. Efficiency of secondary traits for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science** **37**:1110-1117.

Bänziger M, Lafitte HR. 1997b. Breeding for N-stressed environments: How useful are N-stressed selection environments and secondary traits? *In*: Edmeades GO, Bänziger M, Mickelson HR, Peña-Valdiva CB. **Developing Drought and Low N-Tolerant Maize**. Proc. Symposium, March 25-29, 1996. CIMMYT, El Batan, Mexico. Mexico, D.F.: CIMMYT.

Below FE, Brandau PS, Lambert RJ, Teyker RH. 1997. Combining ability for nitrogen use in maize. pp. 316-319. *In*: Edmeades GO, Bänziger M, Mickelson HR, Peña-Valdiva CB. **Developing Drought and Low N-Tolerant Maize**. Proc. Symposium, March 25-29, 1996. CIMMYT, El Batan, Mexico. Mexico, D.F.: CIMMYT.

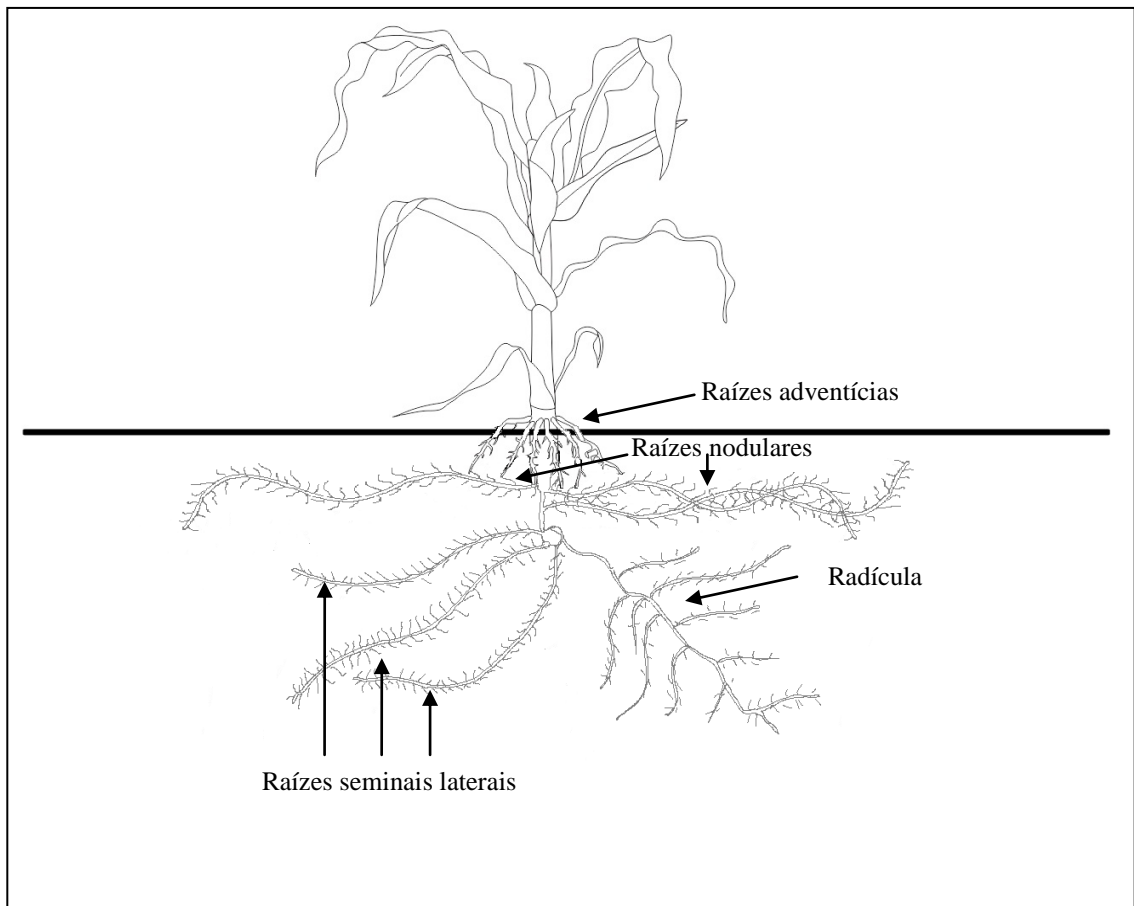
Bignotto EA, Souza EA, Ramalho MAP, Souza JC, Ribeiro PHE. 2000. Desempenho de cultivares modernos de milho em relação a cultivares primitivos em uso no sul de Minas Gerais. *In*: **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Milho e Sorgo**. SBMS, Uberlândia (CD-ROM).

- Bouma TJ, Nielsen KL, Koutstaal B. 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant Soil** **218**: 185-196.
- Bremner JM, Mulvaney CS. 1982. Nitrogen total. In: Page AL (Ed.). **Methods of soil analysis**. Madison: Soil Science Society of America Press, p. 595-624.
- Chevalier P, Schrader LE. 1977. Genotypic differences in nitrate absorption and partitioning of N among plant parts in maize. **Crop Science** **17**: 897-901.
- Chun L, Mi G, Li J, Chen F, Zhang F. 2005. Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. **Plant and Soil** **276**: 369-382.
- Coque M, Gallais A. 2006. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. **Theoretical and Applied Genetics** **112**: 1205-1220.
- Dawson JC, Huggins DR, Jones SS. 2008. Characterizing nitrogen use efficiency in natural and agricultural ecosystems to improve the performance of cereal crops in low-input and organic agricultural systems. **Field Crops Research** **107**: 89-101.
- Donald CM, Hamblin J. 1976. The biological yield and harvest index of cereal as agronomic and plant breeding criteria. **Advances in Agronomy** **28**: 361-405.
- Falconer DS. 1981. **Introduction to quantitative genetics**. 2<sup>a</sup> Ed. Longmans Green, London/New York. 279p.
- Fritsche-Neto R, Miranda GV, DeLima RO, Souza LV, Silva J. 2010. Herança de caracteres associados à eficiência de utilização do fósforo em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **45**: 465-471.
- Fritsche-Neto R. 2011. **Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho** (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 38p.
- Gallais A, Hirel B. 2004. An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. **Journal of Experimental Botany** **396**: 295-306.
- Garnett T, Conn V, Kaiser BN. 2009. Root based approaches to improving nitrogen use efficiency in plants. **Plant Cell and Environment** **32**: 1272-1283.
- Hirel B, Le Gouis J, Ney B, Gallais A. 2007. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches. **Journal of Experimental Botany** **58**: 2369-2387.
- Le Gouis J, Béghin D, Heumez E, Pluchard P. 2000. Genetic differences for nitrogen uptake and nitrogen utilization efficiencies in winter wheat. **European Journal of Agronomy** **12**: 163-173.
- Lima RO. 2010. **Herança e relação entre caracteres associados à morfologia de raiz e eficiência de uso de nitrogênio em milho** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 35p.
- Machado CTT, Machado AT, Furlani AMC. 2004. Variação intrapopulacional em milho para características relacionadas com a eficiência de absorção e utilização de fósforo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** **3**: 77-91.

- Maranville JW, Clark RB, Ross WM. 1980. Nitrogen efficiency in grain sorghum. **Journal Plant Nutrition** 2: 577-589.
- Miranda GV, Godoy CI, Souza LV, Santos IC. 2005. Selection of discrepant maize genotypes for nitrogen use efficiency by a chlorophyll meter. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 5: 451-459.
- Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** 74: 562-564.
- Mollier A, Pellerin S. 1999. Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. **Journal of Experimental Botany** 50: 477-487.
- Oliveira LR. 2009. **Eficiência de uso de nitrogênio e atividade da nitrato redutase e glutamina sintetase em milho** (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 94p.
- Paschold A, Marcon C, Hoecker N, Hochholdinger F. 2009. Molecular dissection of heterosis manifestation during early maize root development. **Theoretical and Applied Genetics** 2: 383-388.
- Pereira FB. 2011. **Relação entre caracteres determinantes na eficiência no uso de nitrogênio e fósforo em milho** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 39p.
- Raun WR, Sanders DH, Olson RA. 1989. Nitrogen fertilizer carries and their placement for minimum till corn under sprinkler irrigation. **Agronomy Journal** 81: 280-285
- Resende MDV. 2002. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.
- Resende MDV. 2007. **Selegen–Reml/Blup: Sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos**. Colombo: EMBRAPA Florestas. 361p.
- Rufty Jr. TW, Israel DW, Volk RJ, Qiu J, Sa T. 1993. Phosphate regulation of nitrate assimilation in soybean. **J. Exp. Bot.** 44, 879-891.
- Souza LV, Miranda GV, Galvão JCC, Eckert FR, Mantovani EE, DeLima RO, Guimarães LJM. 2008. Genetic control of grain yield and nitrogen use efficiency in tropical maize. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** 43: 1517-1523.
- Trachsel S, Messmer R, Stamp P, Hund A. 2009. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics** 119:1413-1424.
- Tsai CL, Dweikat I, Tsai CY. 1980. Effects of source supply and sink demand on the carbon and nitrogen ratios in maize kernels. **Maydica** 35: 391-397.
- Walk TC, Jamarillo R, Lynch JP. 2006. Architectural tradeoffs between adventitious and basal roots for phosphorus acquisition. **Plant Soil** 279: 347-366.
- Worku M, Bänziger M, Friesen D, Schulte auf'm Erley G, Horst WJ, Vivek BS. 2008. Relative importance of general combining ability and specific combining ability among tropical maize (*Zea mays* L.) inbreds under contrasting nitrogen environments. **Maydica** 53: 279-288.

Worku M, Bänziger M, Schulte auf'm Erley G, Friesen D, Diallo AO, Horst WJ. 2007. Nitrogen Uptake and Utilization in Contrasting Nitrogen Efficient Tropical Maize Hybrids. **Crop Science** **47**: 519-528.

Ziadi N, Bélanger G, Cambouris AN, Tremblay N, Nolin MC, Claessens A. 2007. Relationship between P and N Concentrations in Corn. **Agronomy Journal** **99**:833-841.



**Figura 1.** Parte aérea e sistema radicular de uma planta de milho com seis folhas completamente expandidas (V6).

**Tabela 1.** Valores do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) dos grupos I (GI) e II (GII) e dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) entre os dois grupos das análises de deviance individuais, estimativas das herdabilidades nos sentidos restrito ( $h_a^2$ ) e amplo ( $h_g^2$ ), razão entre a variância dos desvios de dominância e a variância aditiva ( $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAN), na utilização (EU<sub>tN</sub>) e no uso de nitrogênio (EUN), em baixa disponibilidade de N, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

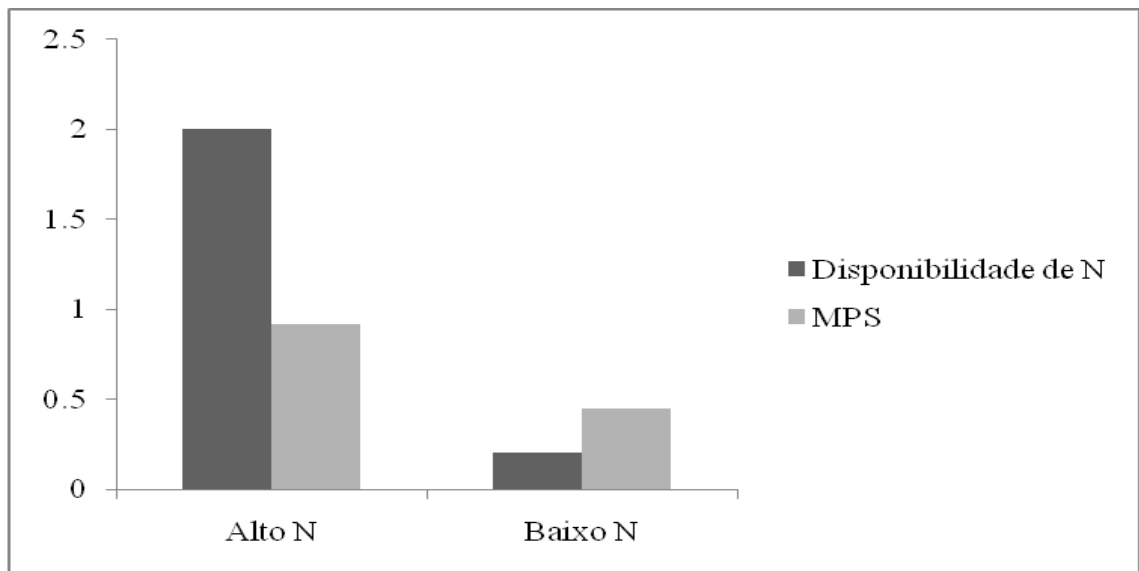
Efeitos	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAN	EU <sub>tN</sub>	EUN
CGC (GI) <sup>1</sup>	0 <sup>NS</sup>	0,32 <sup>NS</sup>	1,89 <sup>NS</sup>	0,05 <sup>NS</sup>	1,67 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>
CGC (GII) <sup>1</sup>	3,97 <sup>**</sup>	3,44 <sup>*</sup>	6,9 <sup>***</sup>	11,53 <sup>***</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	3,96 <sup>**</sup>
CEC GI x GII <sup>1</sup>	1,66 <sup>NS</sup>	1,21 <sup>NS</sup>	1,58 <sup>NS</sup>	0,13 <sup>NS</sup>	0 <sup>NS</sup>	1,67 <sup>NS</sup>
$h_a^2$	0,13	0,14	0,24	0,29	0,09	0,13
$h_g^2$	0,32	0,31	0,41	0,34	0,10	0,32
$\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$	1,43	1,19	0,68	0,15	0,14	1,43
Média	0,45	19,74	8,02	0,33	35,22	11,51
CV (%)	19,54	24,63	23,67	20,75	13,02	19,54

<sup>1</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a \*\*\*P = 0,01, \*\*P = 0,05, \*P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.

**Tabela 2.** Valores do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) dos grupos I (GI) e II (GII) e dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) entre os dois grupos das análises de deviance individuais, estimativas das herdabilidades nos sentidos restrito ( $h_a^2$ ) e amplo ( $h_g^2$ ), razão entre a variância dos desvios de dominância e a variância aditiva ( $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAN), na utilização (EUtN) e no uso de nitrogênio (EUN), em alta disponibilidade de N, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

Efeitos	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAN	EUtN	EUN
CGC (GI) <sup>1</sup>	3,41 <sup>**</sup>	1,19 <sup>NS</sup>	3,66 <sup>**</sup>	4,49 <sup>**</sup>	0 <sup>NS</sup>	3,40 <sup>*</sup>
CGC (GII) <sup>1</sup>	14,19 <sup>***</sup>	7,18 <sup>***</sup>	7,71 <sup>***</sup>	13,20 <sup>***</sup>	9,21 <sup>***</sup>	14,18 <sup>***</sup>
CEC GI x GII <sup>1</sup>	0,14 <sup>NS</sup>	0,13 <sup>NS</sup>	2,68 <sup>NS</sup>	0,23 <sup>NS</sup>	2,70 <sup>NS</sup>	0,15 <sup>NS</sup>
$h_a^2$	0,43	0,26	0,27	0,42	0,22	0,43
$h_g^2$	0,47	0,31	0,59	0,47	0,44	0,47
$\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$	0,09	0,18	1,18	0,12	0,95	0,09
Média	0,92	21,92	8,80	0,10	24,59	2,34
CV (%)	22,31	26,32	20,96	24,07	7,62	22,31

<sup>1</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a \*\*\*P = 0,01, \*\*P = 0,05, \*P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.



**Figura 2.** Comportamento médio de 41 combinações híbridas de milho quanto à massa de parte aérea seca (MPS) em função da disponibilidade de N, Viçosa-MG, Brasil.

**Tabela 3.** Estimativas dos valores de  $F$  calculado para o efeito de disponibilidade de N e do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de combinação híbrida e de interação combinação híbrida x disponibilidade de N das análises de deviance conjuntas, estimativas das herdabilidades no sentido amplo ( $h_g^2$ ), correlações entre os desempenhos dos híbridos nos duas disponibilidades de nitrogênio ( $r_{AN \times BN}$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais ( $CR_{LAT}$ ) e axiais ( $CR_{AXI}$ ), eficiências na absorção (EAN), na utilização (EUtN) e no uso de nitrogênio (EUN), em baixa e alta disponibilidade de N, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

Efeitos	MPS	$CR_{LAT}$	$CR_{AXI}$	EAN	EUtN	EUN
Disponibilidade de N (N) <sup>1</sup>	9,00 <sup>**</sup>	0,19 <sup>NS</sup>	0,18 <sup>NS</sup>	19,20 <sup>**</sup>	8,94 <sup>**</sup>	31,69 <sup>**</sup>
Combinação Híbrida (CH) <sup>2</sup>	0,98 <sup>NS</sup>	0,01 <sup>NS</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	0,57 <sup>NS</sup>	0,88 <sup>NS</sup>	0,64 <sup>NS</sup>
CH x N <sup>2</sup>	21,8 <sup>***</sup>	24,37 <sup>***</sup>	42,86 <sup>***</sup>	12,9 <sup>***</sup>	0,43 <sup>NS</sup>	11,86 <sup>***</sup>
$h_g^2$	0,31	0,36	0,49	0,23	0,01	0,22
$r_{AN \times BN}$	0,77	0,99	0,97	0,75	0,10	0,72
Média	0,69	21,00	8,44	0,22	29,88	6,95
CV (%)	22,71	23,89	21,98	23,86	11,90	23,44

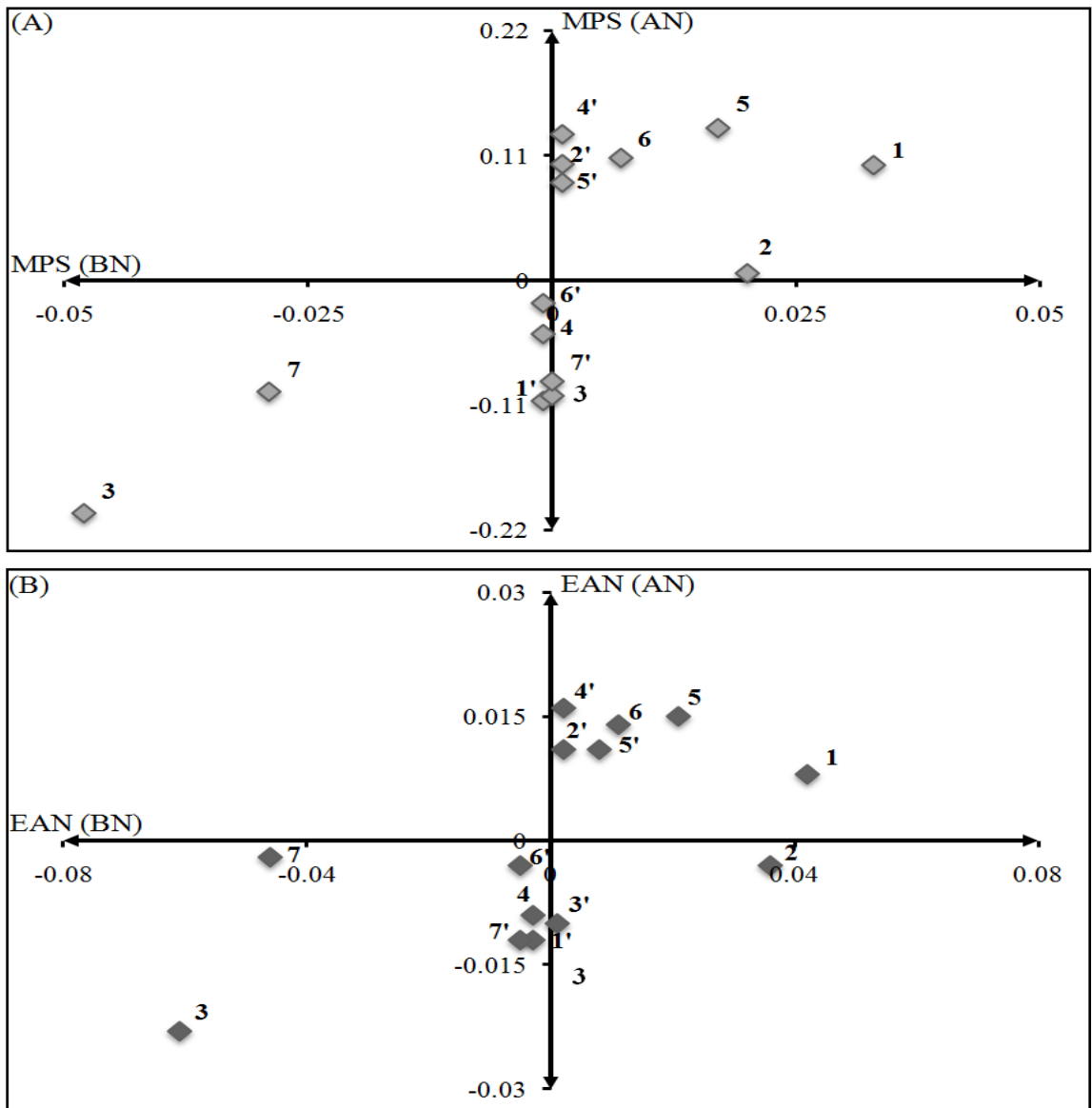
<sup>1</sup> Valores de  $F$  calculado, testados com 1 e 40 graus de liberdade. Significativo a <sup>\*\*</sup>P = 0,01 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $F$ .

<sup>2</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a <sup>\*\*\*</sup>P = 0,01, <sup>\*\*</sup>P = 0,05, <sup>\*</sup>P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.

**Tabela 4.** Estimativas de correlações genóticas entre massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAN), na utilização (EU<sub>tN</sub>) e no uso de nitrogênio (EUN), em baixa (diagonal superior) e alta disponibilidade de N (diagonal inferior), em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAN	EU <sub>tN</sub>	EUN
MPS		0,88 <sup>**</sup>	0,86 <sup>**</sup>	0,85 <sup>**</sup>	0,18 <sup>NS</sup>	1,00 <sup>**</sup>
CR <sub>LAT</sub>	0,98 <sup>**</sup>		0,70 <sup>**</sup>	0,85 <sup>**</sup>	0,03 <sup>NS</sup>	0,88 <sup>**</sup>
CR <sub>AXI</sub>	0,83 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>		0,92 <sup>**</sup>	-0,23 <sup>NS</sup>	0,86 <sup>**</sup>
EAN	0,99 <sup>**</sup>	0,98 <sup>**</sup>	0,86 <sup>**</sup>		-0,35 <sup>*</sup>	0,85 <sup>**</sup>
EU <sub>tN</sub>	-0,56 <sup>**</sup>	-0,62 <sup>**</sup>	-0,74 <sup>**</sup>	-0,64 <sup>**</sup>		-0,18 <sup>NS</sup>
EUN	1,00 <sup>**</sup>	0,98 <sup>**</sup>	0,83 <sup>**</sup>	0,99 <sup>**</sup>	-0,26 <sup>NS</sup>	

Significativos a <sup>\*\*</sup>P = 0,01, <sup>\*</sup>P = 0,05 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste t.



**Figura 3.** Estimativas de capacidade geral de combinação das 14 linhagens genitoras de milho quanto à massa de parte aérea seca (MPS) (A) e a eficiência na absorção de nitrogênio (EAN) em baixa (eixo das abscissas) e alta disponibilidade de N (eixo das ordenadas), Viçosa-MG, Brasil.

#### 4. ARTIGO III

### IMPORTÂNCIA RELATIVA DOS EFEITOS GÊNICOS DE CARACTERES ASSOCIADOS À EFICIÊNCIA NO USO DE FÓSFORO EM MILHO

#### RESUMO

A eficiência no uso de fósforo (P) (EUP) é importante, pois permite alcançar produtividades satisfatórias com menores custos e de modo sustentável. Uma estratégia para melhorar a EUP é elevar seus componentes, às eficiências na absorção (EAP) e na utilização de P (EUtP). Todavia, o conhecimento da herança desses caracteres é fundamental para orientar o melhorista quanto ao método mais adequado de melhoramento a ser empregado. Assim, objetivou-se identificar: (i) a importância relativa dos componentes da EUP, em alta e baixa disponibilidade de P; (ii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca (MPS) com a EUP e seus componentes e, (iii) o controle genético dos caracteres associados à EUP. Foram avaliadas 41 combinações híbridas experimentais em dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de P: baixa (BP) e alta (AP). Os nutrientes, com exceção do P, foram fornecidos via solução nutritiva a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (combinação híbrida x disponibilidade de P). A colheita foi realizada no estágio vegetativo V6 e mensurados os caracteres MPS, os comprimentos de raízes laterais e axiais, a EUP e seus componentes. As análises estatísticas foram realizadas por meio das equações de modelos mistos. Independentemente da disponibilidade de P, a EAP foi o componente mais importante da EUP. Correlações de elevada magnitude foram detectadas entre EAP e EUP, e dessas eficiências com a MPS, tanto em BP como em AP. Em ambas as disponibilidades de P, os efeitos genéticos não aditivos apresentaram maior importância para os caracteres associados à EUP. Observou-se que as estimativas de capacidade específica de combinação para MPS e EUP em ambas as disponibilidades de P, apresentaram comportamento e magnitude semelhantes, de modo que não houve mudança na ordem das combinações híbridas. Assim, a seleção baseada no desempenho de combinações híbridas quanto a MPS, possibilita a obtenção de genótipos com alta EUP.

**Palavras-chave:** *Zea mays* L., capacidade geral e específica de combinação, baixa disponibilidade de fósforo, estresse abiótico, REML/BLUP.

## RELATIVE IMPORTANCE OF THE GENETIC EFFECTS OF TRAITS ASSOCIATED TO PHOSPHORUS USE EFFICIENCY IN MAIZE

### ABSTRACT

The phosphorus (P) use efficiency (PUE) is important because it allows to reach satisfactory yields with lower costs and sustainably. A strategy for improving PUE is to increase its components, the acquisition efficiency (PAE) and P utilization efficiency (PUtE). However, knowledge of the inheritance of these traits is essential to guide breeders in the most appropriate method to be used for improvement. Thus, the aimed to identify: (i) the relative importance of the components of PUE, in high and low P; (ii) the relationship of system root and shoot dry mass (SDM) with PUE and its components and; (iii) the genetic control of traits associated with the PUE. Were evaluated 41 hybrid combinations in two experimental environments that represented contrasting conditions of availability of P: low (LP) and high (HP). The nutrients, except P, were supplied by way of nutrient solution from the seventh day after germination. Were used a randomized block design with two replications in factorial simple (hybrid combination x availability of P). Plants were harvested at vegetative stage V6 and were measured SDM, lengths of axial and lateral roots, NUE and its components. Statistical analysis was performed using the mixed model equations. Independently availability of P, the PAE was the most important component of the PUE. Were detected high magnitude correlations between PAE and PUE, and these efficiencies with the SDM, in low and high P. In both the availability of P, non-additive genetic effects were more important to the traits associated with the PUE. It was observed that the estimates of specific combining ability for SDM and PUE in both availability of P, showed similar behavior and magnitude, so that the was no change in the order of hybrid combinations. Thus, selection based on performance of hybrid combinations to SDM, allows to obtain genotypes with high PUE.

**Key-words:** *Zea mays* L., general and specific combining ability, low availability phosphorus, abiotic stress, REML/BLUP.

## INTRODUÇÃO

Quando a disponibilidade de fósforo (P) é limitante durante o crescimento e desenvolvimento vegetal, ocorre redução no metabolismo, da massa e da superfície de vários órgãos das plantas, afetando assim a produtividade (Sultenfuss e Doyle, 1999). Isto se deve a esse nutriente estar envolvido no processo fotossintético por meio do transporte de energia e nutrientes, na composição dos ácidos nucléicos, açúcares fosfatados, fosfolipídios e coenzimas (Taiz e Zeiger, 2009).

A maioria dos ambientes naturais apresenta condições desfavoráveis com relação aos recursos, principalmente no que diz respeito ao P (Fan *et al.*, 2003; Moreira, 2004). A baixa disponibilidade de P é considerada a principal limitação da produção agrícola em condições tropicais e subtropicais (Nielsen *et al.*, 1999), juntamente com a disponibilidade de água e nitrogênio.

A quantidade de P normalmente recomendada é alta, em razão da baixa eficiência de aproveitamento desse nutriente pelo milho (em torno de 30 %). Isso decorre da alta capacidade de fixação do P adicionado ao solo, através de mecanismos de adsorção e precipitação, reduzindo sua disponibilidade às plantas e fazendo com que esse insumo ocupe grande fatia dos custos de produção de uma lavoura. Estima-se que a demanda por fertilizantes desse gênero, considerando apenas o Brasil em 2010, tenha sido aproximadamente 2,83 milhões de toneladas, sendo a metade importada de outros países (ANDA, 2010). Além disso, a produção desses fertilizantes depende de recursos minerais não renováveis, com estimativas de que reservas passíveis de exploração a custo inferior a U\$ 40 por tonelada deverão se esgotar ainda neste século (Murrel e Fixen, 2006). Assim, entre os desafios para os próximos anos estão o de suprir as crescentes necessidades da população mundial, elevar a segurança alimentar e melhorar a utilização dos recursos não renováveis. Isto pode ser alcançado por meio do desenvolvimento de uma agricultura produtiva, com menores custos e sustentável. Neste sentido, torna-se importante o desenvolvimento de cultivares eficientes no uso de P (EUP).

Moll *et al.* (1982) definiram a EUP como a relação entre a massa de grãos ou de parte aérea por unidade de P disponível para a planta (aplicado mais o remanescente no solo). Segundo esses autores, a EUP é constituída por dois componentes, (i) eficiência na absorção de (EAP), mensurado pela relação entre a quantidade total de P extraído da planta e a quantidade desse nutriente disponível no solo e, (ii) eficiência na utilização de fósforo (EUtP), obtido pela razão entre a massa de grãos ou de parte aérea e a

quantidade total de P extraído da planta. Dessa forma, valores superiores da EUP podem ser obtidos pelo aumento da EAP e, ou da EUtP.

Estudos indicam que a importância dos componentes da EUP varia em função da disponibilidade de P no solo (Whang *et al.*, 2010; Parentoni e Souza Jr., 2008). Para Manske *et al.* (2001) quando a disponibilidade de P é limitante, o componente mais importante para EUP é a EAP. Por outro lado, em condições ideais desse nutriente, a EUtP indica ser o mais relevante (Balemi e Schenk, 2009). Entretanto, Corrales *et al.*, (2007) observaram que em milho o componente mais importante é a EAP, independente da disponibilidade de P. Nota-se portanto, a ausência de informações consistentes para o direcionamento dos programas de melhoramento para condições de estresse causado pela baixa disponibilidade de P.

O conhecimento dessas informações bem como da herança genética em condições contrastantes de disponibilidade de P, é fundamental para orientar o melhorista quanto ao método mais adequado de melhoramento a ser empregado (Gaume *et al.*, 2001; Yun e Kaeppler, 2001). Assim, parâmetros genéticos como capacidade geral (CGC) e específica (CEC) de combinação são muito importantes para se realizar inferências acerca do controle genético do caráter de interesse e sobre as possibilidades de melhoramento, bem como para indicação de novos cultivares (Betrán *et al.*, 2003; Oliveira Jr. *et al.*, 1999).

A validação de métodos de avaliação precoce ou de seleção indireta em plantas também é de grande interesse para programas de melhoramento para condições de estresses abióticos, pois aceleram o processo de seleção, descartando de imediato os genótipos menos promissores (Machado *et al.*, 2004). Por exemplo, Souza *et al.* (2010) verificaram que é possível selecionar, precocemente, genótipos de milho com alta EAP por meio de caracteres de raiz e conteúdo de P na parte aérea. Para isso, o conhecimento da relação entre caracteres é de grande valia, principalmente se os caracteres de interesse apresentam baixa herdabilidade e, ou tenham problemas de mensuração e identificação (Falconer, 1981). Neste sentido, caracteres como massa de parte aérea seca (MPS) e comprimentos de raízes podem ser mensurados em qualquer estágio de desenvolvimento de forma rápida e de baixo custo. Todavia, a influência desses caracteres na EUP ainda é muito pouco conhecida.

Neste contexto, objetivou-se identificar: (i) a importância relativa dos componentes da eficiência no uso de P, em alta e baixa disponibilidade de P; (ii) a relação do sistema radicular e da massa de parte aérea seca com a eficiência no uso de P

e seus componentes e, (iii) o controle genético dos caracteres associados à eficiência no uso de P.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material genético e condução experimental**

Foram utilizados dois grupos de linhagens provenientes do banco de germoplasma do Programa Milho® da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Grupo I (GI) - composto de sete linhagens ( $p = 1, 2, \dots, 7$ ) contrastantes para eficiência no uso de fósforo (EUP); Grupo II (GII) - composto de sete linhagens ( $p' = 1', 2', \dots, 7'$ ) contrastantes para eficiência no uso de nitrogênio (EUN). Através da condução de um fatorial interpopulacional desbalanceado, envolvendo os dois grupos de linhagens, obteve-se 41 combinações híbridas experimentais. Os cruzamentos foram realizados de forma recíproca, sendo misturadas as sementes da mesma combinação, desconsiderando, portanto, a herança extra cromossômica.

Estas 41 combinações híbridas foram avaliadas em dois ambientes que representaram condições contrastantes de disponibilidade de P: baixa (BP) e alta (AP). Utilizou-se o delineamento em blocos ao acaso com duas repetições, em esquema fatorial simples (combinação híbrida x disponibilidade de P). O experimento foi conduzido em casa de vegetação, localizada no Campo Experimental Prof. Diogo Alves de Mello, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da UFV (20°45'14"S; 42°52'53"W), durante o mês de outubro de 2010.

As sementes foram esterilizadas, lavadas com água deionizada e posteriormente germinadas em bandejas com células individuais. Foram usadas três sementes por combinação híbrida. Após a emergência, transplantou-se uma plântula de cada combinação híbrida para vasos cilíndricos de PVC com 4 dm<sup>3</sup> (10cm de diâmetro x 50cm de altura), constituindo assim uma parcela. O substrato utilizado foi preparado pela mistura de 50% de areia lavada em água deionizada, 37,5% de vermiculita e 12,5% de solo (horizonte “B” de Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico). O solo foi usado para adsorver o fósforo e não deixá-lo prontamente disponível para a planta.

A solução nutritiva foi fornecida a cada dois dias, a partir do sétimo dia após a emergência das plântulas. O P foi fornecido via superfosfato triplo. Para o BP adicionou-se 34 mg dm<sup>-3</sup> de P ao substrato e para o AP 192 mg dm<sup>-3</sup> de P, conforme Alvarez V. *et al.* (2000). Os demais nutrientes foram fornecidos via solução nutritiva,

descrita por Passos (1996), sem adição de P, contendo: 1,0M Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 1,0M MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,5M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,32 mM CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 46,0 mM H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,073 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>, 9,1 mM MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,76 mM ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O e 38,0 mM Fe-EDTA.

As plantas foram colhidas no estágio vegetativo V6, isto é, seis folhas completamente expandidas, 30 dias após a sementeira. A parte aérea das plantas foi separada do sistema radicular e acondicionada em sacos de papel. Posteriormente, procedeu-se a secagem em estufa de circulação forçada de ar a 60° C por 72 horas, onde se alcançou massa constante.

### Mensuração de caracteres

Todo o sistema radicular, desde a radícula até as raízes nodais (Figura 1), foi avaliado pela análise de imagens, utilizando o software WinRHIZO Pro 2009c (Basic, Reg, Pro & Arabidopsis for Root Measurement) acoplado a um scanner EPSON *Expression* 10.000 XL equipado com luz adicional (TPU), com definição de 400 dpi, conforme descrito por Bouma *et al.* (2000). As dez classes de diâmetro fornecidas pelo software foram simplificadas em apenas duas, conforme metodologia proposta por Trachsel *et al.* (2009). Assim, para o comprimento das raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>), foram considerados fragmentos com diâmetro menor ou igual a 0,5mm, e para o comprimento das raízes axiais (CR<sub>AXI</sub>), fragmentos com diâmetro maior que 0,5mm.

Para a quantificação do teor de P, extraíram-se amostras de 0,1 g da massa da parte aérea seca (MPS) por planta e realizada a digestão nitroperclórica, conforme Malavolta *et al.* (1989). As leituras foram feitas em espectrofotômetro a 725 nm. O conteúdo de P foi estimado a partir do seu teor, extrapolando-o por unidade de MPS.

A eficiência no uso de P e seus componentes, a eficiência na absorção (EAP) e a eficiência na utilização de P (EUtP), foram calculadas de acordo com o proposto por Moll *et al.* (1982):

$$EAP = \frac{P(\text{absorvido})}{P(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUtP = \frac{MPS}{P(\text{absorvido})} (\text{mg mg}^{-1})$$

$$EUP = EAP \times EUtP = \frac{MPS}{P(\text{aplicado})} (\text{mg mg}^{-1})$$

### Análises de deviance e componentes de variância

Na análise de modelos mistos, os efeitos do modelo não são testados via teste *F*, assim como se faz no método da análise de variância. Nesse caso, para os efeitos

aleatórios, o recomendado é o teste da razão de verossimilhança (LRT), em que, um quadro similar ao da análise de variância é elaborado e denominado por Análise de Deviance (ANADEV), estabelecida pelos seguintes passos (Fritsche-Neto, 2011): i) obter o ponto de máximo do logaritmo da função de verossimilhança residual (Log L) para modelos com e sem o efeito a ser testado; ii) obter a deviance  $D = -2 \text{ Log L}$  para modelos com e sem o efeito a ser testado; iii) obter a diferença entre as deviances para modelos com e sem o efeito a ser testado, obtendo a razão de verossimilhança (LR); iv) testar, via LRT, a significância dessa diferença usando o teste qui-quadrado com 1 grau de liberdade, pois estas estimativas tendem a ter este tipo de distribuição.

Para a obtenção dos componentes de variância e das estimativas dos parâmetros genéticos, submeteram-se os dados às análises por meio do método da Máxima Verossimilhança Restrita/ Melhor Preditor Linear Não Viesado (REML/BLUP), conforme descrito por Resende (2002). Inicialmente, procederam-se as análises de deviance individuais, isto é, para cada disponibilidade de P, considerando o seguinte modelo:

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Zm} + \mathbf{Wf} + \mathbf{Tc} + \mathbf{e}$$

em que:  $\mathbf{y}$  é o vetor das médias fenotípicas das combinações híbridas;  $\mathbf{r}$  é o vetor dos efeitos de repetição (assumidos como fixos) somados à média geral;  $\mathbf{m}$  é o vetor dos efeitos de genitores do Grupo II (assumidos como aleatórios), em que,  $m \sim N(0, M)$ , sendo  $M = I\sigma_m^2$ ;  $\mathbf{f}$  é o vetor dos efeitos de genitores do Grupo I (assumidos como aleatórios), em que,  $f \sim N(0, F)$ , sendo  $F = I\sigma_f^2$ ;  $\mathbf{c}$  é o vetor dos efeitos da capacidade específica de combinação do Grupo I com o II (assumidos como aleatórios), em que,  $c \sim N(0, C)$ , sendo  $C = I\sigma_c^2$ ;  $\mathbf{e}$  é o vetor de erros, sendo que  $e \sim N(0, R)$  e  $R = I\sigma_e^2$ .  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$ ,  $\mathbf{W}$  e  $\mathbf{T}$  são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{m}$ ,  $\mathbf{f}$ , e  $\mathbf{c}$  ao vetor  $\mathbf{y}$ .

As equações de modelos mistos para a predição de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{m}$ ,  $\mathbf{f}$ , e  $\mathbf{c}$  equivalem a:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} & \mathbf{X}'\mathbf{W} & \mathbf{X}'\mathbf{T} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda_1 & \mathbf{Z}'\mathbf{W} & \mathbf{Z}'\mathbf{T} \\ \mathbf{W}'\mathbf{X} & \mathbf{W}'\mathbf{Z} & \mathbf{W}'\mathbf{W} + \lambda_2 & \mathbf{W}'\mathbf{T} \\ \mathbf{T}'\mathbf{X} & \mathbf{T}'\mathbf{Z} & \mathbf{T}'\mathbf{W} & \mathbf{T}'\mathbf{T} + \lambda_3 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{m} \\ \mathbf{f} \\ \mathbf{c} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \\ \mathbf{W}'\mathbf{y} \\ \mathbf{T}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

$$\text{em que, } \lambda_1 = \frac{1 - h_m^2 - h_f^2 - h_c^2}{h_m^2}, \lambda_2 = \frac{1 - h_m^2 - h_f^2 - h_c^2}{h_f^2} \text{ e } \lambda_3 = \frac{1 - h_m^2 - h_f^2 - h_c^2}{h_c^2}$$

$h_m^2$  é a herdabilidade no sentido restrito dos genitores do GI;  $h_f^2$  é a herdabilidade no sentido restrito dos genitores do GII e  $h_c^2$  é o coeficiente de determinação dos efeitos da capacidade específica de combinação do GI com GII.

Posteriormente, foram realizadas as análises de deviance conjuntas, isto é, para as duas disponibilidades de P, considerando um modelo simplificado, conforme descrito por Resende (2002):

$$\mathbf{y} = \mathbf{Xr} + \mathbf{Zg} + \mathbf{Wi} + \mathbf{e}$$

em que:  $\mathbf{y}$  é o vetor de dados fenotípicos;  $\mathbf{r}$  é o vetor dos efeitos de repetição dentro das disponibilidades de P (assumidos como fixos) somados à média geral;  $\mathbf{g}$  é o vetor dos efeitos genotípicos (assumidos como aleatórios), em que,  $g \sim N(0, G)$ , sendo  $G = I\sigma_g^2$ ;  $\mathbf{i}$  é o vetor da interação combinação híbrida x disponibilidade de fósforo (assumidos como aleatórios), em que,  $i \sim N(0, I_{ga})$ , sendo  $I_{ga} = I\sigma_{ga}^2$ ;  $\mathbf{e}$  é o vetor de erros, sendo que  $e \sim N(0, R)$  e  $R = I\sigma_e^2$ .  $\mathbf{X}$ ,  $\mathbf{Z}$  e  $\mathbf{W}$  são matrizes de incidência que relacionam, respectivamente, os efeitos de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  ao vetor  $\mathbf{y}$ .

As equações de modelo misto para a predição de  $\mathbf{r}$ ,  $\mathbf{g}$  e  $\mathbf{i}$  equivalem a:

$$\begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{X} & \mathbf{X}'\mathbf{Z} & \mathbf{X}'\mathbf{W} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{X} & \mathbf{Z}'\mathbf{Z} + \lambda_1 & \mathbf{Z}'\mathbf{W} \\ \mathbf{W}'\mathbf{X} & \mathbf{W}'\mathbf{Z} & \mathbf{W}'\mathbf{W} + \lambda_2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \mathbf{r} \\ \mathbf{g} \\ \mathbf{i} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mathbf{X}'\mathbf{y} \\ \mathbf{Z}'\mathbf{y} \\ \mathbf{W}'\mathbf{y} \end{bmatrix}$$

em que,  $\lambda_1 = \frac{1 - h_g^2 - h_i^2}{h_g^2}$  e  $\lambda_2 = \frac{1 - h_g^2 - h_i^2}{h_i^2}$

$h_g^2$  é a herdabilidade no sentido amplo das combinações híbridas;  $h_i^2$  é o coeficiente de determinação da interação combinação híbrida x disponibilidade de P.

Para a resolução das equações de modelos mistos e a obtenção dos valores genéticos, os componentes de variância genéticos e não genéticos foram assumidos desconhecidos. Estes foram estimados pelo método REML, utilizando o pacote estatístico computacional SELEGEM-REML/BLUP (Resende, 2007).

### Estatística e teste dos efeitos fixos

A estatística do efeito de ambiente (disponibilidade de P), assumido como fixo,

foi estimada a partir da expressão  $F_{calc} = t_{calc}^2 = \left( \frac{\bar{x}_{BP} - \bar{x}_{AP}}{\sqrt{\frac{2QMR}{r}}} \right)^2$ , onde  $\bar{x}_{BP}$  e

$\bar{x}_{AP}$  correspondem às médias do mesmo caráter em baixa e alta disponibilidade de P, respectivamente;  $QMR$  o quadrado médio do resíduo da análise conjunta e  $r$  o número de repetições.

As estimativas das estatísticas  $F_{cal}$ , foram testadas a 1 e a 5% de probabilidade pelo teste  $F$ .

### **Correlações entre ambientes e caracteres**

Visando conhecer a relação entre as respostas das combinações híbridas em baixa e alta disponibilidade de P ( $r_{AP \times BP}$ ), estimou-se a correlação entre o *rank* dessas combinações, considerando o desempenho do mesmo caráter nas duas disponibilidades de P. Para isso, utilizou-se o coeficiente de correlação de postos de *Spearman* ( $\rho$ ), pela seguinte expressão  $\rho = \frac{1 - 6 \sum d_i^2}{n(n^2 - 1)}$ , onde  $d_i^2$  é a diferença entre o posto de cada valor correspondente em BP e AP e  $n$  o número de pares de valores.

Para a relação entre os diferentes caracteres numa mesma disponibilidade de P, estimou-se os coeficientes de correlação genotípica ( $r_g$ ) por meio da expressão

$$r_g = \frac{\hat{\sigma}_{gxy}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{gx}^2 \hat{\sigma}_{gy}^2}}, \text{ em que, } \hat{\sigma}_{gxy} \text{ é o estimador da covariância genotípica entre os caracteres}$$

em uma dada disponibilidade de P;  $\hat{\sigma}_{gx}^2$  e  $\hat{\sigma}_{gy}^2$  são estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres.

As estimativas de  $r_g$  foram testadas a 1 e 5% de probabilidade pelo teste  $t$ .

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

### **Análises de deviance e parâmetros genéticos**

Considerando os resultados das análises de deviance individuais em baixa disponibilidade de P, observa-se que os genitores do GI apresentaram diferença significativa para o efeito de capacidade geral de combinação (CGC) quanto aos componentes da EUP (Tabela 1). No entanto, os genitores do GII diferiram para o efeito de CGC somente para os comprimentos de raiz. Esses resultados já eram esperados, pois foram identificados em experimento preliminar, genitores contrastantes quanto à EUP e seus componentes para constituir o GI e genitores contrastantes quanto à EUN para compor o GII, comprovando que a identificação desses genitores foi eficiente.

Essas diferenças indicam a existência de variabilidade genética aditiva e que os genitores contribuem de maneira diferenciada na transmissão de alelos que controlam a expressão dos componentes da EUP. Em alta disponibilidade de P, não foram identificadas diferenças significativas entre os genitores do GI e do GII, para o efeito de CGC quanto aos caracteres avaliados (Tabela 2).

Em relação aos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC), foram observadas, nas duas disponibilidades de P, diferenças significativas para a maioria dos caracteres estudados, dentre esses a EUP (Tabelas 1 e 2). Isto indica que independentemente da disponibilidade de P, as combinações híbridas apresentaram desvios significativos em relação ao comportamento médio dos genitores. Adicionalmente foram constatadas diferenças de grande magnitude entre as estimativas de herdabilidades no sentido amplo e restrito, principalmente em alta disponibilidade de P. Assim, pode-se verificar que a variância genotípica é explicada, principalmente, pela variância devido aos desvios de dominância, comprovado pelos altos valores da razão  $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ . Isto demonstra que os efeitos não-aditivos têm maior importância para a EUP, conforme relatado por Chen *et al.* (2009), que identificaram QTLs em milho relacionados a esse caráter com efeitos predominantemente de dominância parcial ou de sobredominância. Assim, indiferentemente da disponibilidade de P, maiores ganhos genéticos deverão ser obtidos por meio do uso de estratégias de melhoramento interpopulacionais (Freitas Jr. *et al.*, 2006).

Para a maioria dos caracteres, as estimativas de média e herdabilidade foram, em geral, menores em baixa disponibilidade de P. Segundo Coque e Gallais (2006) em condições de estresse abiótico ocorre redução da variabilidade genética e, por consequência, da herdabilidade, pois os genótipos tendem a apresentar desempenhos similares, dificultando com isso a seleção. As exceções foram para a EAP que foi igual nas duas disponibilidades de P e para EUtP e EUP. Isto ocorre porque esses dois últimos caracteres são mensurados em função da MPS e esta não foi reduzida na mesma proporção que a disponibilidade de P (Figura 2). Enquanto que a concentração desse nutriente foi reduzida em quase seis vezes, a produção média de MPS reduziu pela metade. Assim, para cada miligrama de P absorvido em baixa disponibilidade de P, foram produzidos mais de 8 miligramas de MPS por planta, enquanto que em alta disponibilidade um pouco mais de 3 miligramas. Isto indica que existem combinações híbridas que requerem menores quantidades de P para produzir as mesmas quantidades de MPS produzida por outras em condição ideal de suprimento desse nutriente.

Observou-se pelas análises de deviance conjuntas que os níveis de P foram suficientemente contrastantes para discriminar o desempenho das combinações híbridas quanto à maioria dos caracteres, exceto para os comprimentos de raízes (Tabela 3). Verificou-se que o efeito de combinações híbridas apresentou diferença significativa para os caracteres MPS, EAP e EUP. A variância genética detectada na análise conjunta corresponde à média das variâncias em todos os ambientes avaliados, subtraída a interação. Por esta razão, quando se trabalha com ambientes contrastantes é comum que a variabilidade genética apresentada em cada ambiente como, por exemplo, as diferenças detectadas para os caracteres CR<sub>LAT</sub>, CR<sub>AXI</sub> e EAP, sejam “consumidas” pelas respectivas interações na análise conjunta. Contudo, as combinações híbridas responderam diferentemente quando submetidas às condições de baixa e alta disponibilidade de P, evidenciado pelos efeitos significativos da interação combinação híbrida x disponibilidade de P (CH x P), com exceção da EUtP. Isto indica que a seleção deveria ser realizada em ambientes específicos e não em função do comportamento médio, pois os alelos que controlam a expressão de um determinado caráter em baixa suplementação nutricional são, pelo menos parcialmente, diferentes dos alelos que controlam esse mesmo caráter em condição ideal de suplementação (Souza *et al.*, 2009). Entretanto, as correlações entre os desempenhos das combinações híbridas em baixa e alta disponibilidade de P ( $r_{AP \times BP}$ ) apresentaram estimativas de média a alta magnitude para a maioria dos caracteres avaliados, com exceção da EUtP. Isto é um indicativo de interação do tipo simples (Resende 2002), pois reflete a consistência da superioridade dos genótipos mesmo mudando a disponibilidade de P, ou seja, as combinações híbridas com desempenho superior em baixa disponibilidade são também as melhores em alta. Desse modo, híbridos de milho podem ser avaliados em um único ambiente (baixa ou alta disponibilidade de P) e as decisões tomadas nesse o será para os demais (Falconer, 1981). Com isso, economizar-se-ia recurso, tempo e mão de obra.

Os coeficientes de variação, tanto das anadevs individuais quanto das conjuntas, foram relativamente altos para alguns caracteres. Todavia, estão no intervalo observado para estudo dessa natureza (Ciarelli *et al.*, 1998; Brito 2009; Fritsche-Neto *et al.*, 2010), o que indica boa precisão experimental e alta confiabilidade das estimativas.

### **Correlações entre caracteres**

Apesar de o sistema radicular ser essencial na absorção de P, pouco é conhecido sobre a relação deste com a absorção de P. Neste sentido, foram estimados os

coeficientes de correlação da EUP e de seus componentes, com os caracteres de raiz. Todavia, o sistema radicular foi simplificado no presente estudo em raízes axiais, responsáveis pela arquitetura radicular ao longo do volume do solo e em raízes laterais, que determinam a capacidade em capturar recursos do solo (Chun *et al.*, 2005).

A maioria das estimativas de correlação genotípica ( $r_g$ ) apresentaram, independentemente da disponibilidade de P, coeficientes de média a alta magnitude (Tabela 4). As estimativas de correlação significativas, detectada entre os comprimentos de raízes axiais e laterais, nas duas disponibilidades de P, evidencia a existência de dependência hierárquica entre estas, ou seja, à medida que ocorre aumento do comprimento das matrizes axiais, aumenta, por consequência, os pontos de emergência das raízes laterais. Assim, maiores zonas de captação são originadas, o que auxilia na absorção de P.

Incrementos na MPS indicam que podem proporcionar aumento no sistema radicular e maiores comprimentos de raízes devem causar aumentos na EAP, tanto em baixa como em alta disponibilidade de P. Para Mollier e Pellerin (1999) quanto maior o crescimento da parte aérea em milho, maior a superfície fotossinteticamente ativa que, por sua vez, contribui para o balanço global de carbono na planta. Posteriormente, o carbono assimilado é alocado para outros compartimentos, dentre estes o sistema radicular.

Observou-se correlação negativa e significativa entre EAP e EUtP nas duas disponibilidades de P. Provavelmente nos estádios iniciais, as plantas de milho absorvem mais os nutrientes do que os utilizam. No decorrer do desenvolvimento o componente da utilização tem sua importância aumentada em detrimento da absorção. Assim, tanto em estádios iniciais como em mais avançados, os componentes da eficiência no uso de nutrientes não apresentam proporcionalidade. Em baixa disponibilidade de P os efeitos de CGC para ambos os componentes foram significativos, porém, não somaram para que o efeito de EUP também o fosse (Tabela 1). Whang *et al.* (2010) relataram que não é possível obter ganhos para ambos os componentes em uma dada condição de disponibilidade de P. Segundo esses autores a variabilidade genética detectada para EUP, em baixa disponibilidade de P, é em função da EAP, sendo o efeito de EUtP geralmente negligenciado. Wissuma e Ae (2001); Panigrahy *et al.* (2009) observaram efeito semelhante em arroz; Manske *et al.* (2001) em trigo, Zhao *et al.* (2004) em soja e Beebe *et al.* (2006) em feijão. Por outro lado, em alta disponibilidade, a EUtP parece ser o principal componente da EUP (Whang *et al.*, 2010) e, assim, ganhos para esse caráter devem ser alcançados pelo aumento desse outro

componente. Manske *et al.* (2001) observaram o mesmo em trigo e Balemi e Schenk (2009) em batata. No entanto, os resultados deste trabalho estão totalmente acordados com os obtidos por Corrales *et al.* (2007) e Parentoni e Souza Jr. (2008), em que observaram que a EAP é o componente mais importante para EUP, independente da disponibilidade de P. Esse fato é evidenciado pelas correlações positivas e de elevada magnitude (0,91 em baixa e 0,92 em alta disponibilidade de P) entre EAP e EUP.

Outro resultado que evidencia a maior importância da EAP para EUP em milho é a existência de correlação negativa e significativa entre EUtP e EUP em baixa disponibilidade de P e a ausência de correlação entre ambas em alta disponibilidade desse nutriente. Nesta última condição, em específico, a ausência de relação entre esses caracteres é um indicativo de redução da diversidade alélica quanto à EUtP, uma vez que os cultivares modernos, em sua quase totalidade, são selecionados quanto a responsividade em condições de alta disponibilidade nutricional.

Apesar de ter sido constatada correlação positiva e significativa entre comprimentos de raízes e a EUP, é provável que não seja possível selecionar genótipos mais eficientes com base nestes caracteres radiculares. Isto porque Pereira (2011), por meio da análise de trilha, identificou que a alta correlação entre os caracteres supracitados se deve ao elevado efeito indireto via MPS, seja em condição ideal de suprimento de P ou de estresse causado pelo baixo fornecimento deste nutriente. Para este autor, caracteres como MPS e EAP podem proporcionar maiores impactos em termos de ganhos genéticos.

### **Estimativas de CGC e CEC**

Foram verificadas correlação linear e positiva entre MPS e EUP nas duas condições de disponibilidade de P. Diante destes resultados e do verificado no trabalho de Pereira (2011) e, por ter ainda, sido constatado que a EAP foi o componente mais importante para explicar as diferenças da EUP nas duas disponibilidades de P, apresentou-se apenas as estimativas de CGC (Tabela 5) e CEC (Tabela 6) para os caracteres MPS, EAP e EUP.

Os genitores com valores elevados e positivos para os efeitos de CGC, geralmente apresentam médias, nos cruzamentos em que participam, superiores à média geral das combinações híbridas. Portanto, esses genitores são os que mais contribuem para o aumento da expressão do caráter, enquanto aqueles com valores altos e negativos contribuem com a redução de sua manifestação. Neste sentido, observou-se que em geral, os genitores do GI, isto é, contrastantes quanto a EUP, contribuíram mais

significativamente para expressão da MPS, EAP e EUP independentemente da disponibilidade de P (Tabela 5). Em alta disponibilidade, observou-se que as estimativas de CGC dos genitores do GI para a EAP não diferiram significativamente de zero, conforme mencionado anteriormente. Assim, pode-se constatar que os genitores desse grupo devem contribuir pouco para o aumento da EAP e que os genitores do GII, como 3' e 7', devem reduzir a sua manifestação. Mesmo assim, verificou-se que algumas combinações híbridas como 4x2' e 6x4' sobressaíram em baixa disponibilidade e 4x1', 6x2', 6x3', 4x2' e 6x5' em alta. Constata-se, portanto, que os genitores 4 e 6, identificados com as maiores CGC em BP, contribuíram mais para o aumento da EAP nas duas disponibilidades de P.

As estimativas de CEC evidenciam a importância dos genes com efeitos não-aditivos, o que serve para enfatizar a importância de interações não-aditivas, resultantes da complementação gênica entre os parentais. Adicionalmente, observou-se estimativas positivas e negativas para os caracteres MPS, EAP e EUP nas duas disponibilidades de P (Tabela 6). Dessa forma, em baixa disponibilidade de P, as combinações híbridas que mais contribuíram para o aumento da produção de MPS foram 6x5', 7x6', 5x6' e 6x4', enquanto que as superiores em alta disponibilidade foram 4x2' e 6x6'.

Para o desenvolvimento de variedades de polinização aberta (VPA), além de alta CEC, recomenda-se que haja participação nos cruzamentos de no mínimo, um genitor com elevada CGC (Betrán *et al.*, 2003). Dessa forma, além de altos valores de CEC o genitor 6 se destacou pela alta CGC para MPS, uma vez que participou da formação das combinações híbridas 6x5' e 6x4' em baixa e da 6x6' em alta disponibilidade, as quais figuraram entre as superiores nas duas disponibilidades de P. Isto é um indicativo de que esse genótipo, quando usado como genitor, tende a produzir VPA com maior desempenho quanto a MPS, independentemente da disponibilidade de P.

As estimativas de CEC para o caráter MPS nas duas disponibilidades de P, apresentaram o mesmo comportamento e magnitudes semelhantes das observadas para EUP, de modo que não houve mudança na ordem das combinações híbridas. Isto é um indicativo de que a seleção de genótipos de milho com alta EUP pode ser realizada por meio da MPS. Pereira (2011) e Fritsche-Neto *et al.* (2010) identificaram a MPS como caráter fundamental na seleção precoce e indireta de genótipos de milho com alta EUP. Para Bignotto *et al.* (2000) a MPS é um indicador de produtividade. Isso se deve ao índice de colheita (IC), que se constitui na fração dos grãos produzidos em relação à massa da planta seca. Em milho esses valores estão estagnados há décadas, os quais se encontram próximos de 0,60 (Raun *et al.*, 1989). Neste sentido, valores adicionais em

MPS podem implicar em aumento de produtividade, devendo, portanto, ser um caráter empregado em programas de melhoramento de plantas (Donald e Hamblin, 1976). Todavia, são necessários estudos que relacionem o desempenho de genótipos com base em MPS, em estádios precoces de desenvolvimento, com a produtividade no final do ciclo. Uma vez constatada relação, a seleção para se identificar genótipos promissores para condições de estresse causado pela baixa disponibilidade de P poderá ser baseada em MPS, o que ocasionará redução do tempo e do trabalho demandado.

## CONCLUSÕES

- Independentemente da disponibilidade de fósforo, a eficiência na absorção é o componente mais importante da eficiência no uso de P em milho;
- A associação perfeita entre massa de parte aérea seca e a eficiência no uso de P possibilita a seleção indireta deste segundo caráter pelo primeiro;
- Os efeitos genéticos não aditivos têm maior importância para os caracteres associados à eficiência no uso de P, de modo que a seleção deve ser realizada pelo desempenho de combinações híbridas;
- A interação combinação híbrida x disponibilidade de P é predominantemente do tipo simples, de forma que a seleção pode ser realizada em uma única disponibilidade de P.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alvarez V VH, Novais RF, Dias LE, Oliveira JA. 2000. Determinação e uso do fósforo remanescente. In: Desertificação, o Brasil busca soluções. **Boletim Informativo: Sociedade Brasileira de Ciência do solo** 25: 27-32.

ANDA. Associação Nacional para Difusão de Adubos. 2010. Disponível em <http://www.anda.org.br/MERCADO%20DE%20FERTILIZANTES.janeiro-outubro20.pdf%20>. Acesso em 11 de out 2011.

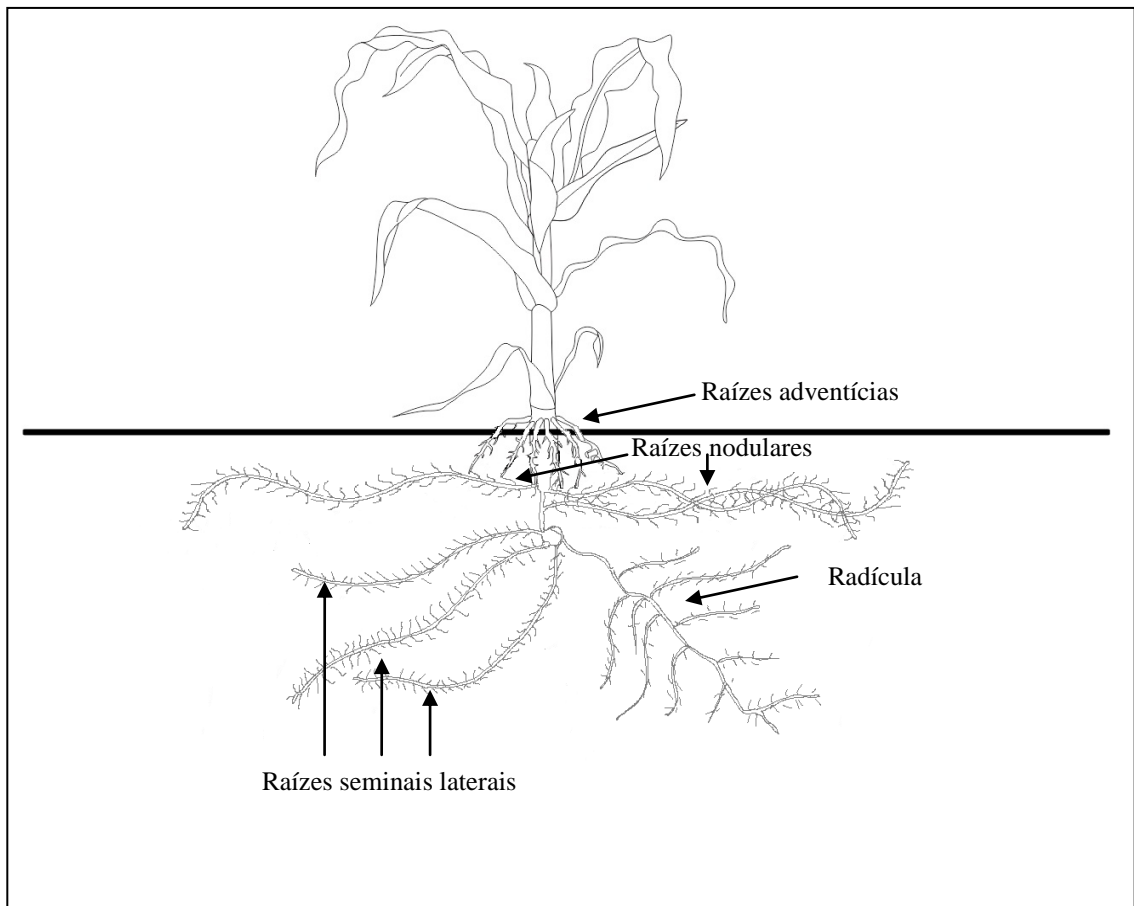
Balemi T, Schenk MK. 2009. Genotypic variation of potato for phosphorus efficiency and quantification of phosphorus uptake with respect to root characteristics. **Journal Plant Nutrition Soil Science** 172: 669-677.

Beebe SE, Rojas-Pierce M, Yan X, Blair MW, Pedraza F, Muñoz F, Tohme J, Lynch JP. 2006. Quantitative trait loci for root architecture traits correlated with phosphorus acquisition in common bean. **Crop Science** 46: 413-423.

- Betrán FJ, Beck D, Bänziger M, Edmeades GO. 2003. Genetic analysis of inbred and hybrid grain yield under stress and nonstress environments in tropical maize. **Crop Science** **43**: 807-817.
- Bignotto EA, Souza EA, Ramalho MAP, Souza JC, Ribeiro PHE. 2000. Desempenho de cultivares modernos de milho em relação a cultivares primitivos em uso no sul de Minas Gerais. In: **Anais do XXIII Congresso Brasileiro de Milho e Sorgo**. SBMS, Uberlândia (CD-ROM).
- Bouma TJ, Nielsen KL, Koutstaal B. 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. **Plant and Soil** **218**: 185-196.
- Brito CM. 2009. Variabilidade genética e caracterização do sistema radical de plântulas de milho para eficiência na absorção e utilização de fósforo (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 39p.
- Chen J, Xu L, Cai Y, Xu J. 2009. Identification of QTLs for phosphorus utilization efficiency in maize (*Zea mays* L.) across P levels. **Euphytica** **167**: 245-252.
- Chun L, Mi G, Li J, Chen F, Zhang F. 2005. Genetic analysis of maize root characteristics in response to low nitrogen stress. **Plant and Soil** **276**: 369-382.
- Ciarelli DM, Furlani AMC, Dechen AR, Lima M. 1998. Genetic variation among maize genotypes for phosphorus-uptake and phosphorus-use efficiency in nutrient solution. *Journal of plant nutrition* **21**: 2219-2229.
- Coque M, Gallais A. 2006. Genomic regions involved in response to grain yield selection at high and low nitrogen fertilization in maize. **Theoretical and Applied Genetics** **112**: 1205-1220.
- Corrales I, Amenós M, Poschenrieder C, Barceló J. 2007. Phosphorus efficiency and root exudates in two contrasting tropical maize varieties. **Journal Plant Nutrition** **30**: 887-900.
- Donald CM, Hamblin J. 1976. The biological yield and harvest index of cereal as agronomic and plant breeding criteria. **Advances in Agronomy** **28**: 361-405.
- Falconer DS. 1981. **Introduction to quantitative genetics**. 2ª Ed. Longmans Green, London/New York. 279p.
- Fan M, Zhu J, Richards C, Brown KM, Lynch JP. 2003. Physiological roles aerenchyma in phosphorus-stressed roots. **Functional Plant Biology** **30**: 493-506.
- Freitas Jr. SP, Amaral Jr. AT, Pereira MG, Cruz CD, Scapim CA. 2006. Capacidade combinatória em milho-pipoca por meio de dialelo circulante. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **41**: 1599-1607.
- Fritsche-Neto R, Miranda GV, DeLima RO, Souza LV, Silva J. 2010. Herança de caracteres associados à eficiência de utilização do fósforo em milho. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **45**: 465-471.
- Fritsche-Neto R. 2011. **Seleção genômica ampla e novos métodos de melhoramento do milho** (Tese de Doutorado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 38p.

- Gaume A, Mächler F, De León C, Narro L, Frossard E. 2001. Low-P tolerance by maize (*Zea mays* L.) genotypes: significance of root growth, and organic acids and acid phosphatase root exudation. **Plant and Soil** **228**: 253-264.
- Machado CTT, Machado AT, Furlani AMC. 2004. Variação intrapopulacional em milho para características relacionadas com a eficiência de absorção e utilização de fósforo. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo** **3**: 77-91.
- Malavolta E, Vitti GC, Oliveira SA. 1989. **Avaliação do estado nutricional de plantas**. Piracicaba: Potafos. 201p.
- Manske GGB, Ortiz-Monasterio JI, van Ginkel M, González RM, Fischer RA, Rajaram S, Vlek PLG. 2001. Importance of P uptake efficiency versus P utilization for wheat yield in acid and calcareous soils in Mexico. **European Journal of Agronomy** **14**: 261-274.
- Moll RH, Kamprath EJ, Jackson WA. 1982. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal** **74**: 562-564.
- Mollier A, Pellerin S. 1999. Maize root system growth and development as influenced by phosphorus deficiency. **Journal of Experimental Botany** **50**: 477-487.
- Moreira MF. 2004. **Desenvolvimento do sistema radicular e da parte aérea do feijoeiro comum em função da distribuição e do teor de fósforo no solo** (Tese de Doutorado). Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz – Piracicaba, SP, 160p.
- Murrell TS, Fixen PE. 2006. Improving fertilizer P effectiveness: challenges for the future. In: **International Symposium on Phosphorus Dynamics in the Soil-Plant Continuum**, 3, Uberlândia. Proceedings... Sete Lagoas: Embrapa Milho e Sorgo, p. 150-151.
- Nielsen KL, Miller CR, Beck D, Lynch JP. 1999. Fractal geometry of root system: Field observations of contrasting genotype of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under different phosphorus regimes. **Plant and soil** **206**: 181-190.
- Oliveira Jr. A, Miranda GV, Cruz CD. 1999. Prediction of F3 populations based on unbalanced diallel crossing systems. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **34**: 781-787.
- Panigrahy M, Rao DN, Sarla N. 2009. Molecular mechanisms in response to phosphate starvation in rice. **Biotechnology Advances** **27**: 389-397.
- Parentoni SN, Souza Jr. CL. 2008. Phosphorus acquisition and internal utilization efficiency in tropical maize genotypes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **43**: 893-901.
- Passos LP. 1996. **Métodos analíticos e laboratoriais em fisiologia vegetal**. Coronel Pacheco: Embrapa/CNPGL. 223p.
- Pereira FB. 2011. **Relação entre caracteres determinantes na eficiência no uso de nitrogênio e fósforo em milho** (Dissertação de Mestrado). Universidade Federal de Viçosa – Viçosa, MG, 39p.
- Raun WR, Sanders DH, Olson RA. 1989. Nitrogen fertilizer carries and their placement for minimum till corn under sprinkler irrigation. **Agronomy Journal** **81**: 280-285.

- Resende MDV. 2002. **Genética biométrica e estatística no melhoramento de plantas perenes**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica. 975p.
- Resende MDV. 2007. **Selegen–Reml/Blup: Sistema estatístico e seleção genética computadorizada via modelos lineares mistos**. Colombo: EMBRAPA Florestas. 361p.
- Souza LV, Miranda GV, Galvão JCC, Guimarães LJM, Santos IC. 2009. Combining ability of maize grain yield under different levels of environmental stress. **Pesquisa Agropecuária Brasileira** **44**: 1297-1303.
- Souza SM, Parentoni SN, Guimarães CT, Magalhães JV, Vasconcelos MJV. 2010. Análise do sistema radicular para seleção de genótipos de milho mais eficientes na aquisição de fósforo. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento** **24**. 21p.
- Sultenfuss JH and Doyle WJ. 1999. Phosphorus for agriculture. **Better Crops with Plant Food** **83**: 1-40.
- Taiz L, Zeiger E. 2009. **Fisiologia vegetal**. (4. Ed.) Porto Alegre: Artmed. 848p.
- Trachsel S, Messmer R, Stamp P, Hund A. 2009. Mapping of QTLs for lateral and axile root growth of tropical maize. **Theoretical and Applied Genetics** **119**:1413-1424.
- Whang X, Shen J, Liao H. 2010. Acquisition or utilization, which is more critical for enhancing phosphorus efficiency in modern crops? **Plant Science** **179**: 302-306.
- Wissuwa M, Ae N. 2001. Genotypic variation for tolerance to phosphorus deficiency in rice and the potential for its exploitation in rice improvement. **Plant Breeding** **120**: 43-48.
- Yun SJ, Kaeppler SM. 2001. Induction of maize acid phosphatase activities under phosphorus starvation. **Plant and Soil** **237**: 109-115.
- Zhao J, Fu J, Liao H, He Y, Nian H, Hu Y, Qiu L, Dong Y, Yan X. 2004. Characterization of root architecture in an applied core collection for phosphorus efficiency of soybean germplasm. **Chinese Science Bulletin** **49**: 1611-1620.



**Figura 1.** Parte aérea e sistema radicular de uma planta de milho com seis folhas completamente expandidas (V6).

**Tabela 1.** Valores do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) dos grupos I (GI) e II (GII) e dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) entre os dois grupos das análises de deviance individuais, estimativas das herdabilidades nos sentidos restrito ( $h_a^2$ ) e amplo ( $h_g^2$ ), razão entre a variância dos desvios de dominância e a variância aditiva ( $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAP), na utilização (EUtP) e no uso de fósforo (EUP), em baixa disponibilidade de P, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

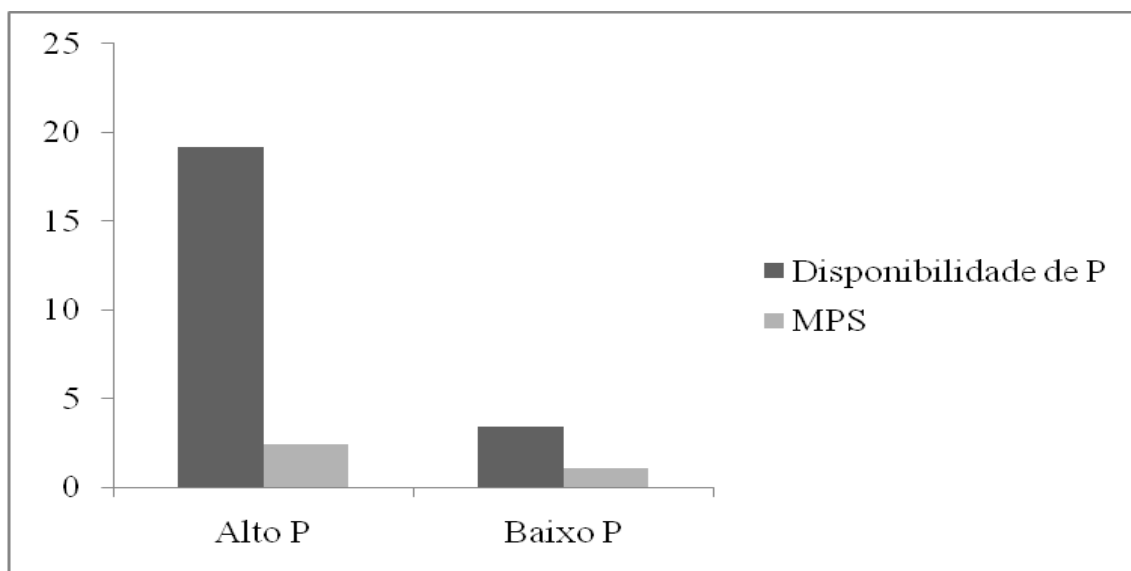
Efeitos	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAP	EUtP	EUP
CGC (GI) <sup>1</sup>	1,23 <sup>NS</sup>	1,77 <sup>NS</sup>	0,48 <sup>NS</sup>	2,72*	3,24*	1,22 <sup>NS</sup>
CGC (GII) <sup>1</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	8,30***	5,32**	0,00 <sup>NS</sup>	0,82 <sup>NS</sup>	0,00 <sup>NS</sup>
CEC GI x GII <sup>1</sup>	2,96*	3,88**	5,82**	3,14*	0,51 <sup>NS</sup>	2,99*
$h_a^2$	0,04	0,24	0,13	0,06	0,34	0,04
$h_g^2$	0,32	0,50	0,48	0,15	0,42	0,32
$\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$	6,95	1,09	2,72	1,29	0,25	6,95
Média	1,09	29,19	11,30	0,02	517,29	8,11
CV (%)	28,61	14,87	17,71	43,78	12,94	28,61

<sup>1</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a \*\*\*P = 0,01, \*\*P = 0,05, \*P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.

**Tabela 2.** Valores do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de capacidade geral de combinação (CGC) dos grupos I (GI) e II (GII) e dos efeitos de capacidade específica de combinação (CEC) entre os dois grupos das análises de deviance individuais, estimativas das herdabilidades nos sentidos restrito ( $h_a^2$ ) e amplo ( $h_g^2$ ), razão entre a variância dos desvios de dominância e a variância aditiva ( $\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAP), na utilização (EUtP) e no uso de fósforo (EUP), em alta disponibilidade de P, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

Efeitos	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAP	EUtP	EUP
CGC (GI) <sup>1</sup>	2,28 <sup>NS</sup>	0,36 <sup>NS</sup>	1,93 <sup>NS</sup>	0,30 <sup>NS</sup>	0,0 <sup>NS</sup>	2,26 <sup>NS</sup>
CGC (GII) <sup>1</sup>	1,22 <sup>NS</sup>	2,57 <sup>NS</sup>	0,07 <sup>NS</sup>	1,34 <sup>NS</sup>	1,04 <sup>NS</sup>	1,22 <sup>NS</sup>
CEC GI x GII <sup>1</sup>	15,77 <sup>***</sup>	7,99 <sup>***</sup>	22,10 <sup>***</sup>	3,04 <sup>*</sup>	0,00 <sup>NS</sup>	15,77 <sup>***</sup>
$h_a^2$	0,05	0,12	0,02	0,15	0,07	0,05
$h_g^2$	0,66	0,56	0,74	0,36	0,07	0,66
$\hat{\sigma}_d^2 / \hat{\sigma}_a^2$	12,52	3,87	28,77	1,08	7,00	12,52
Média	2,41	33,62	11,85	0,02	179,33	3,14
CV (%)	19,85	17,71	13,91	30,29	22,99	19,85

<sup>1</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a \*\*\*P = 0,01, \*\*P = 0,05, \*P = 0,10 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.



**Figura 2.** Comportamento médio de 41 combinações híbridas de milho quanto à massa de parte aérea seca (MPS) em função da disponibilidade de P, Viçosa-MG, Brasil.

**Tabela 3.** Estimativas dos valores de  $F$  calculado para o efeito de disponibilidade de P e do teste de razão de verossimilhança (LRT) para os efeitos de combinação híbrida e de interação combinação híbrida x disponibilidade de P das análises de deviance conjuntas, estimativas das herdabilidades no sentido amplo ( $h_g^2$ ), correlações entre os desempenhos dos híbridos nas duas disponibilidades de fósforo ( $r_{AP \times BP}$ ), médias e coeficientes de variação (CV) da massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais ( $CR_{LAT}$ ) e axiais ( $CR_{AXI}$ ), eficiências na absorção (EAP), na utilização (EUtP) e no uso de fósforo (EUP), em baixa e alta disponibilidade de P, em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

Efeitos	MPS	$CR_{LAT}$	$CR_{AXI}$	EAP	EUtP	EUP
Níveis de fósforo (P) <sup>1</sup>	10,69 <sup>**</sup>	0,76 <sup>NS</sup>	0,09 <sup>NS</sup>	4,08 <sup>*</sup>	35,05 <sup>**</sup>	8,52 <sup>**</sup>
Combinações Híbridas (CH) <sup>2</sup>	8,01 <sup>***</sup>	0,36 <sup>NS</sup>	0,8 <sup>NS</sup>	4,85 <sup>*</sup>	0,11 <sup>NS</sup>	8,01 <sup>***</sup>
CH x P <sup>2</sup>	29,74 <sup>***</sup>	38,87 <sup>***</sup>	53,1 <sup>***</sup>	8,54 <sup>***</sup>	2,02 <sup>NS</sup>	29,74 <sup>***</sup>
$h_g^2$	0,34	0,48	0,55	0,21	0,01	0,28
$r_{AP \times BP}$	0,58	0,91	0,90	0,85	0,05	0,79
Média	1,75	31,57	11,61	0,02	346,95	5,63
CV (%)	23,12	16,09	16,10	36,69	16,46	30,24

<sup>1</sup> Valores de  $F$  calculado, testados com 1 e 40 graus de liberdade. Significativo a  $**P = 0,01$  e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $F$ .

<sup>2</sup> Valores obtidos pelo teste da razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio Test* - LRT). Significativo a  $***P = 0,01$ ,  $**P = 0,05$ ,  $*P = 0,10$  e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste  $\chi^2$  com 1 grau de liberdade.

**Tabela 4.** Estimativas de correlações genóticas entre massa de parte aérea seca (MPS), comprimento de raízes laterais (CR<sub>LAT</sub>) e axiais (CR<sub>AXI</sub>), eficiências na absorção (EAP), na utilização (EUtP) e no uso de fósforo (EUP), em baixa (diagonal superior) e alta disponibilidade de P (diagonal inferior), em 41 combinações híbridas de milho, Viçosa-MG, Brasil

	MPS	CR <sub>LAT</sub>	CR <sub>AXI</sub>	EAP	EUtP	EUP
MPS		0,48 <sup>**</sup>	0,76 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>	-0,62 <sup>**</sup>	1,00 <sup>**</sup>
CR <sub>LAT</sub>	0,79 <sup>**</sup>		0,59 <sup>**</sup>	0,44 <sup>**</sup>	-0,34 <sup>*</sup>	0,48 <sup>**</sup>
CR <sub>AXI</sub>	0,89 <sup>**</sup>	0,83 <sup>**</sup>		0,48 <sup>**</sup>	-0,18 <sup>NS</sup>	0,76 <sup>**</sup>
EAP	0,92 <sup>**</sup>	0,62 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>		-0,82 <sup>**</sup>	0,91 <sup>**</sup>
EUtP	0,24 <sup>NS</sup>	0,38 <sup>*</sup>	-0,01 <sup>NS</sup>	-0,39 <sup>*</sup>		-0,62 <sup>**</sup>
EUP	1,00 <sup>**</sup>	0,79 <sup>**</sup>	0,89 <sup>**</sup>	0,92 <sup>**</sup>	-0,25 <sup>NS</sup>	

Significativos a <sup>\*\*</sup>P = 0,01, <sup>\*</sup>P = 0,05 e <sup>NS</sup> não-significativo pelo teste t.

**Tabela 5.** Estimativas de capacidade geral de combinação para massa de parte aérea seca (MPS), eficiências na absorção (EAP) e no uso de fósforo (EUP), em baixa e alta disponibilidade de P, para 14 linhagens genitoras de milho com base em suas 41 combinações híbridas, Viçosa-MG, Brasil

Linhagens genitoras	MPS		EAP		EUP	
	BP	AP	BP	AP	BP	AP
1	-0,030	-0,113	-0,001	0,000	-0,220	-0,148
2	-0,002	0,143	-0,001	0,000	-0,012	0,187
3	-0,001	0,040	0,000	0,000	-0,006	0,052
4	0,039	0,045	0,002	0,000	0,287	0,056
5	0,022	-0,008	0,000	0,000	0,160	-0,010
6	0,036	-0,023	0,003	0,000	0,271	-0,031
7	-0,065	-0,079	-0,003	0,000	-0,480	-0,103
1'	0,001	0,010	0,000	0,001	0,004	0,013
2'	0,000	0,001	0,000	0,000	0,003	0,002
3'	-0,003	-0,008	0,000	-0,001	-0,021	-0,010
4'	-0,001	-0,003	0,000	0,000	-0,014	-0,004
5'	0,001	-0,005	0,000	0,000	0,005	-0,007
6'	0,003	0,016	0,000	0,001	0,020	0,020
7'	0,001	-0,011	0,000	-0,001	0,004	-0,015

**Tabela 6.** Estimativas de capacidade específica de combinação para massa de parte aérea seca (MPS), eficiências na absorção (EAP) e no uso de fósforo (EUP), em baixa e alta disponibilidade de P, estimadas em 41 combinações híbridas de milho provenientes de 14 linhagens, Viçosa-MG, Brasil

Combinação híbrida	MPS		EAP		EUP	
	BP	AP	BP	AP	BP	AP
CH 1x1'	0,016	-0,722	0,000	-0,004	0,119	-0,940
CH 1x2'	-0,106	0,232	-0,001	0,000	-0,787	0,302
CH 1x3'	0,057	0,305	0,000	0,000	0,425	0,397
CH 1x5'	0,080	0,366	0,000	0,002	0,595	0,477
CH 1x6'	0,142	0,287	0,001	0,000	1,059	0,373
CH 1x7'	-0,119	0,862	0,000	0,002	-0,888	1,122
CH 2x1'	0,026	0,179	0,000	0,000	0,194	0,233
CH 2x4'	0,033	0,336	0,000	0,003	0,245	0,437
CH 2x5'	0,127	0,918	0,000	0,004	0,943	1,195
CH 2x6'	-0,139	-1,258	-0,001	-0,005	-1,036	-1,638
CH 3x1'	-0,076	-0,376	0,000	-0,002	-0,563	-0,489
CH 3x2'	-0,057	0,267	0,000	0,000	-0,427	0,348
CH 3x4'	-0,004	0,269	0,000	0,002	-0,028	0,350
CH 3x5'	0,037	-0,128	0,000	0,000	0,274	-0,167
CH 3x6'	-0,309	-0,573	-0,001	-0,002	-2,296	-0,746
CH 3x7'	0,006	-0,475	0,000	-0,002	0,047	-0,619
CH 4x1'	0,094	0,400	0,000	0,005	0,697	0,521
CH 4x2'	0,122	1,269	0,002	0,003	0,911	1,652
CH 4x4'	-0,085	-0,126	0,000	0,000	-0,633	-0,163
CH 4x5'	-0,187	-0,667	0,000	-0,003	-1,388	-0,868
CH 4x6'	-0,016	-0,422	0,000	-0,002	-0,121	-0,550
CH 4x7'	-0,187	-0,812	-0,001	-0,003	-1,387	-1,057
CH 5x1'	-0,094	-0,405	0,000	-0,002	-0,697	-0,527
CH 5x2'	0,019	-0,334	0,000	0,001	0,138	-0,435
CH 5x3'	0,044	0,101	0,000	0,001	0,327	0,132
CH 5x4'	-0,004	-0,270	0,000	-0,001	-0,032	-0,351
CH 5x5'	-0,021	0,053	0,000	-0,001	-0,153	0,069
CH 5x6'	0,223	0,477	0,001	0,003	1,660	0,621
CH 5x7'	-0,077	-0,327	0,000	-0,002	-0,573	-0,426
CH 6x1'	-0,183	-0,645	0,000	-0,004	-1,359	-0,840
CH 6x2'	0,000	0,547	0,000	0,005	-0,003	0,712
CH 6x3'	-0,068	0,414	0,000	0,005	-0,502	0,540
CH 6x4'	0,221	0,406	0,002	0,002	1,645	0,528
CH 6x5'	0,284	0,271	0,001	-0,001	2,110	0,353
CH 6x6'	0,120	1,051	0,000	0,001	0,894	1,368
CH 7x2'	0,011	-	0,000	-	0,083	-
CH 7x3'	-0,039	-0,265	0,000	-0,001	-0,293	-0,346
CH 7x4'	0,121	-0,057	0,000	-0,001	0,899	-0,074
CH 7x5'	-0,163	-0,918	0,000	-0,004	-1,213	-1,195
CH 7x6'	0,245	0,114	0,001	0,000	1,820	0,149
CH 7x7'	-0,095	-0,343	0,000	-0,002	-0,704	-0,446

## 5. CONCLUSÕES GERAIS

- É possível identificar genitores de milho contrastantes quanto aos componentes da eficiência no uso de nitrogênio e fósforo;
- A eficiência na absorção é o componente mais importante para a eficiência no uso de nitrogênio e fósforo, independentemente da disponibilidade desses nutrientes;
- A massa de parte aérea seca permite a seleção indireta de genótipos mais eficientes no uso de nitrogênio e fósforo;
- As interações combinação híbrida x disponibilidade nitrogênio ou fósforo são predominantemente do tipo simples, de forma que a seleção pode ser realizada em uma única disponibilidade desses nutrientes;
- O controle genético da eficiência no uso de nitrogênio é principalmente do tipo aditivo, de modo que a seleção pode ser realizada pelo desempenho individual de linhagens;
- O controle genético da eficiência no uso de fósforo é predominantemente do tipo não aditivo, de modo que a seleção deve ser realizada pelo desempenho de híbridos.